Aus dem Institut für Neuropathologie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. Jorge Cervós-Navarro

Der Einfluß organischer Lösungsmittel (n-Hexan, MEK und deren Gemisch) auf die Hirn- und Körperentwicklung von Rattenembryo, -fetus und Jungtier

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Angela Rabe geb. Stockdreher
aus Berlin

1985

Aus dem Institut für Neuropathologie der Freien Universität Berlin

Direktor: Prof. Dr. Jorge Cervós-Navarro

Der Einfluß organischer Lösungsmittel (n-Hexan, MEK und deren Gemisch) auf die Hirn- und Körperentwicklung von Rattenembryo, -fetus und Jungtier

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Angela Rabe geb.Stockdreher
aus Berlin

Referent: Prof. Dr. J. Cervos-Navarro

Korreferent: Prof. Dr. H. Altenkirch

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 22.5.1985

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Neuropathologie der FU Berlin (Direktor: Prof. Dr. J. Cervós-Navarro) sowie am Institut für Boden-, Wasser- und Lufthygiene des BGA Berlin (Direktor: Prof. Dr. G. v. Nieding) ausgearbeitet.

Ich danke Herrn Prof. Cervós-Navarro und Herrn Prof. Wagner für die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Stoltenburg für die wissenschaftliche Betreuung und geduldige Unterstützung.

Bei allen technischen Mitarbeitern beider Institute möchte ich mich für das gute Arbeitsklima und die freundschaftliche Hilfe bedanken.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549615_0056

INHALT

		Seite
1.	PROBLEMDARSTELLUNG	7
2.	VERSUCHSPLANUNG	12
3.	MATERIAL UND METHODEN	15
3.1	Versuchstiere	15
3.2	Chemikalien	15
3.3	Expositionsanlage	15
3.4	Färbemethoden zum Nachweis von Implantationsstellen am Uterus	17
3.5	Histologische Methoden	18
3.5.1	Lichtmikroskopie	18
3.5.2	Elektronenmikroskopie	19
3.5.3	Golgi-Imprägnation	19
3.6	Histochemische Methoden	20
3.6.1	Succinat-Dehydrogenase	20
3.6.2	NADH/NADPH-abhängige Dehydrogenasen	21
4.	ERGEBNISSE	22
4.1	Auswirkungen der Schadstoffexposition auf die Muttertiere während der Schwangerschaft	22
4.1.1	Allgemeine Veränderungen	22
4.1.2	Lähmungserscheinungen	22
4.1.3	Gewichtsentwicklung der Muttertiere	25
4.1.4	Schwangerschaftsrate	27
4.2	Entwicklung der Jungtiere	30
4.2.1	Gewichtsentwicklung	30
4.2.2	Gehirnentwicklung	38
4.2.3	Enzymhistochemie	43
4.2.4	Lichtmikroskopische Golgiimprägnation	48
4.2.5	Lichtmikroskopische Gefrierschnitte	49
4.2.6	Elektronenmikroskopische Schnitte	51
5.	DISKUSSION	53
6.	ZUSAMMENFASSUNG	59
7.	LITERATURVERZEICHNIS	61

ABKÜRZUNGEN

GAPDH:	Glycerinaldehyd-3-phosphatdehydrogenase
Hex:	n-Hexan
Hex/MEK:	n-Hexan/MEK-Gemisch
H.E.:	Hämatoxylin-Eosin
Ko:	Kontrolle
MAK:	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MBK:	Methyl-Butyl-Keton
MEK:	Methyl-Ethyl-Keton
NADP:	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NADPH:	reduziertes NADP
NAD:	Nicotinamidadenindinucleotid
NADH:	reduziertes NAD
NADH-TR:	NADH-Tetrazolium-Reductase
Nitro-BT:	Nitrobluetetrazolium
PNS:	peripheres Nervensystem
p.p.	post partum
RES:	Reticuloendotheliales System
ZNS:	zentrales Nervensystem

1. PROBLEMDARSTELLUNG

Organische Lösungsmittel haben in den letzten Jahren hinsichtlich ihrer Toxizität viel an Interesse gewonnen. Aufgrund ihrer spezifischen Eigenschaften (hohes Fettlösungsvermögen, leichte Flüchtigkeit) werden sie industriell in großem Maße genutzt. Hauptanwendung finden sie bei der Herstellung von Lackfarbe und Klebstoffverdünnung sowie in der leder- und fellverarbeitenden Industrie und dem Druckereigewerbe. So werden in den USA jährlich ca. 250 Mio Liter n-Hexan produziert (U.S. International Trade Commission 1974), dem ca. 25,0 Mio Arbeitnehmer bei dessen Verarbeitung ausgesetzt sind (NIOSH 1977).

In der Bundesrepublik Deutschland sind ca. 112 000 Beschäftigte in der fellverarbeitenden Industrie tätig, davon 60 000 Frauen, die täglich den Lösungsmitteldämpfen ausgesetzt sind; in der Druckindustrie sind es 159 000, davon etwa 20% Frauen (Statistisches Bundesamt 1980). Die chemischen Eigenschaften der Lösungsmittel bedingen natürlich auch biologische Veränderungen, die sich aufgrund ihrer hohen Lipophilie und guten Resorbierbarkeit vorzugsweise im zentralen (ZNS) und peripheren (PNS) Nervensystem sowie Fettgewebe anreichern.

Klinische Beobachtungen:

Die Wirkung der Aromaten (Benzol, Xylol, Toluol, Naphtalin) und ihrer Metaboliten ist lange bekannt. Die neurotoxischen Symptome infolge chronischer Exposition gegenüber aliphatischen Kohlenwasserstoffen (Hexan, Butan) bei Industriearbeitern sind bereits vielfach beschrieben (Allen 1975, Billmaier 1974, Davenport 1976, Hershkowitz 1971, Mallov 1976, Paulson 1976). Da ein Großteil der Beschäftigten in den Industriebetrieben Frauen sind (s.o.), hat man nun zu untersuchen, welche Schäden am Neugeborenen auftreten, wenn die Mutter während einer Schwangerschaft aufgrund ihrer Tätigkeit in lösungsmittelverarbeitenden Industriezweigen dem Schadstoff täglich ausgesetzt ist.

Holmberg beschreibt 1979 in einer zweijährigen Studie eine signifikant hohe Inzidenz an congenitalen Schäden bei Neugeborenen, deren Mütter eben diesen Lösungsmitteln ausgesetzt waren. Das Hauptaugenmerk wurde in diesen Untersuchungen auf die Schädigung des ZNS gelegt. Untersuchungen von Funes-Cravioto et al. 1977 sowie Strandberg 1978 beschreiben ebenfalls die teratogene und fetotoxische Wirkung der Lösungsmittel. Die Abortrate scheint höher zu sein, es traten häufiger congenitale Mißbildungen auf (Erickson et al. 1978).

Experimentelle Daten:
Am besten untersucht ist hierzu die Gruppe der Aromaten, speziell Benzol. Es wurden Ratten vor und während der Schwangerschaft 24 Stunden pro Tag mit Konzentrationen bis 210 ppm bedampft. Unter diesen Bedingungen wurden niedrigere Wurfgrößen beobachtet (Golfmekler 1968). Auch bei ausschließlicher Exposition während der Schwangerschaft konnte dies beobachtet werden (Puskina et al. 1968) Weiterhin wurde von verzögerter Eigengewichtsentwicklung der Jungen berichtet, wenn die Muttertiere vier Monate vor und während der Tragzeit Benzoldämpfen ausgesetzt waren (Vozovaya 1975, 1976, Hudaĉ/Ungváry 1978).

Sehr hohe Benzolkonzentrationen, denen die Muttertiere zwischen dem 6. und 16. Schwangerschaftstag (sensible Phase) ausgesetzt waren, hatten einerseits die mangelhafte Gewichtsentwicklung der Mutter, andererseits ein niedriges Geburtsgewicht der Jungtiere zur Folge (Green 1978). Außerdem traten höhere Mißbildungsraten auf. Diese sind bereits bei niedrigeren Benzolkonzentrationen (50 bis 500 ppm, 6. bis 16. Schwangerschaftstag) in Form von Enzephalomalazien und Verknöcherungsstörungen aufgetreten (Hazleton-Studie 1977, Kuna/Kapp 1981).

Ein sensibler Parameter zur Beurteilung der Embryotoxizität bei Ratten ist die Resorption der Schwangerschaft. Werden Muttertiere niedriger Benzolkonzentration (40 ppm) während der Schwangerschaft ausgesetzt, kommt es zur gesteigerten Resorption (Litton Bionetics 1978). Green (1978) und

die Studie der Hazleton-Laboratorien (1977) beobachteten dieses Phänomen bei ihren Untersuchungen ebenfalls, jedoch ohne Signifikanz gegenüber der Kontrollgruppe.

Die Untersuchungen der Embryo- und Fetotoxizität aliphatischer Kohlenwasserstoffe sind rar. Auffallend waren auch hier eine verzögerte fetale Entwicklung sowie höhere Mißbildungsraten, wenn Muttertiere zwischen 6. und 15. Tag der Schwangerschaft Methyl-Ethyl-Keton-(MEK)Dämpfen, Tetrachlorkohlenstoff oder Dichloräthan ausgesetzt waren (Schwetz et al. 1974). Signifikante Verringerung der Wurfgröße sowie der Jungtiergewichte während der ersten drei Lebenswochen wurden bei Exposition von 2 000 ppm Methyl-Butyl-Keton (MBK) 6 Stunden/Tag während der gesamten Tragzeit der Mütter beschrieben (Peters et al. 1981).

Bei Untersuchungen der Embryotoxizität von n-Hexan kam Bus (1979) zu ähnlichen Ergebnissen. Wurden die Muttertiere während der sensiblen Phase der Schwangerschaft mit 1 000 ppm n-Hexan bedampft (6 Stunden/Tag), konnten deutliche Wachstumsverzögerungen der Jungtiere beobachtet werden.

Viele dieser Lösungsmittel haben auch eine narkotische Wirkung. Diese Eigenschaft führte dazu, daß die Lösungsmittel unter bestimmten psychosozialen Bedingungen verwendet werden, um Rauschzustände zu erzeugen. Vorzugsweise werden Nitroverbindungen, Ester, Ketone und Benzine hierfür verwendet. Aufgrund ihrer leichten Zugänglichkeit ist dieser Mißbrauch schwer kontrollierbar und kaum zu unterbinden. Seit Ende der sechziger Jahre hat dieser Abusus - als "Schnüffeln" bezeichnet - erheblich zugenommen. In Berlin wurden 300 chronische Schnüffler registriert, eine Zahl von mindestens 1 000 wird jedoch angenommen (Altenkirch 1982). Bei diesem Abusus werden Konzentrationen eingeatmet, die die MAK-Werte (Maximale Arbeitsplatzkonzentration, Henschler 1974) um das 10- bis 50fache überschreiten. Es werden die verschiedenen Lösungsmittel inhaliert; in Berlin wird fast ausschließlich Pattexverdünner(R) als Droge bevorzugt.

Als Hauptbestandteil enthält Pattexverdünner n-Hexan (31 %), Toluol (30 %), Äthylacetat (28 %) und eine Benzinfraktion (11 %).

Die gesundheitlichen Schäden, speziell die des PNS im Sinne von Polyneuropathie, sind vielfach beschrieben worden (Altenkirch et al. 1977 a, b, c, 1978, 1982, Goto 1974, Korobkin 1975, Oh 1976, Shirabe 1974, Towfighi 1976). Verstärkt wurden diese Schädigungen durch den Zusatz von MEK als Vergällungsmittel, das für sich nicht als neurotoxisch gilt (Altenkirch et al. 1977 a). MEK selbst verstärkt jedoch offensichtlich die neurotoxische Wirkung des n-Hexan durch erhöhte Metabolisierungsrate. Es gilt als erwiesen, daß die Metaboliten des n-Hexan, -2,5-Hexandion und MBK, verstärkt durch MEK über eine Verzögerung des axonalen Transports zu den peripheren Neuropathien führen. Als Ursache hierfür wird einerseits eine toxische Hemmung der Glycolyse, speziell der GAPDH, durch n-Hexan und seinen Metaboliten -2,5-Hexandion angesehen (Sabri et al. 1979 a, b, Spencer et al. 1979). Graham (1980) widerspricht dem, da die GAPDH nur in ganz geringem Maße von 2,5-Hexandion inhibiert wird. Außerdem werden die durch das Agenz induzierten Veränderungen der Neurofilamente nicht als Folge des defekten Transportes angesehen, sondern als primäre Ursache in der Pathogenese der n-Hexanneuropathie, welche dann den axonalen Transport über ein sogenanntes Crosslinking hemmt. De Caprio (1982, 1983) unterstützt diese These, kommt aber zu dem Schluß, daß erhebliche Mengen von 2,5-Hexandion anfluten müssen, wie sie in vivo nicht erreicht werden, um diesen Effekt zu erzielen.

Neugeborene könnten nun nach diesen Thesen außerordentlich mit Schädigungen des ZNS und PNS reagieren, da das wachsende Nervensystem gegenüber Mangelsituationen äußerst empfindlich ist. Betrachtet man jedoch die geringere Aktivität der mikrosomalen Enzymen der Leber, könnte der junge Organismus zumindest von der toxischen Wirkung der Metaboliten, speziell hier der Potenzierungseffekt des MEK auf n Hexan-Applikation, geschützt sein.

In Berlin wurden kurz aufeinanderfolgend drei Fälle von Schwangerschaften schnüffelnder junger Frauen bekannt. Da von einer hohen Expositionskonzentration seitens der Mütter ausgegangen werden mußte, wurde mit congenitalen Schäden der Neugeborenen gerechnet. In einem Fall wurde ein Schwangerschaftsabbruch veranlaßt, im zweiten Fall wurde der Säugling im Alter von sechs und zwölf Monaten kinderärztlich und neurologisch untersucht. Da auch der Vater dieses Kindes chronischer Schnüffler war, mußte aufgrund der Beobachtungen von Holmberg (1979) mit einer entsprechend höheren Mißbildungsrate gerechnet werden als bei alleiniger Exposition der Mutter. Anfangs zeigte das Kind eine Hepatosplenomegalie sowie diskrete Spastizität der unteren Extremitäten, was jedoch nach zwölf Lebensmonaten nicht mehr auffallend war. Das Kind hatte sich normal entwikkelt.

In der vorliegenden Arbeit soll nun versucht werden, im Tierexperiment die toxische Wirkung der Lösungsmittel auf das Muttertier während und nach der Schwangerschaft aufzuzeigen. Als wichtigstes Untersuchungsziel galt die Beobachtung der postnatalen Entwicklung der Jungtiere, wobei Veränderungen am ZNS und PNS neben allgemeinen Abweichungen besondere Beachtung finden sollten.

2. VERSUCHSPLANUNG

Im Rahmen von gemeinschaftlichen Untersuchungen wurden Tierexperimente unternommen, die die Auswirkungen von n-Hexan, MEK und deren Gemisch (80 : 20 n-Hexan/MEK) auf den Organismus der Ratte während und nach der Schwangerschaft überprüfen sollten. Hierbei wurde neben allgemeinen Veränderungen das Maß der Embryotoxizität, das sich im Falle der Ratte in einer erhöhten Rückresorptionsrate manifestiert, untersucht. Die vielfach beschriebene Veränderung am PNS bei chronischer Schadstoffexposition wurde bestätigt. Besonderes Augenmerk galt jedoch der postnatalen Entwicklung der Jungtiere. Retardierungseffekte zeigen sich vorwiegend an Organen, die sich erst nach der Geburt voll entwickeln. Das Gehirn, speziell das Kleinhirn, ist hier am sinnvollsten zu untersuchen, zumal auch hier die Neurotoxizität der Schadstoffe im Vordergrund steht:

Die erwachsene Kleinhirnrinde besteht aus drei Schichten. Die äußere - stratum moleculare - beinhaltet viele Gliazellen und wenige Nervenzellen: zum einen die Korbzellen, die durch Kollateralen Querverbindungen zwischen den Purkinjezellen herstellen, um an diesen inhibitorische Synapsen zu bilden; zum anderen enthält sie die Sternzellen.

Weiter innen ist das stratum gangliosum gelegen, dessen wesentlicher Bestandteil die Purkinjezellen bzw. deren Zellkörper sind. Ihre Dendriten verzweigen sich und ziehen bis zur Kleinhirnoberfläche (s.o.).

Aus der Körnerschicht steigen die afferenten Fortsätze der Körnerzellen auf, die sich aufteilen und parallel zu der Kleinhirnrinde ziehen (Parallelfasern).

Die Neuriten der Purkinjezellen geben in der Körnerschicht rückläufige Kollateralen ab und führen zu den in der Tiefe gelegenen Kleinhirnkernen.

In der nächsttiefer gelegenen Zellschicht liegen die Körnerzellen - stratum granulosum -, genauer: ihre Dendriten. Sie bilden Synapsen mit den aus der Tiefe kommenden Moosfasern in den glomerula cerebellaria, um dann mit den übrigen Neuronen der Kleinhirnrinde, Purkinjezellen und Korbzellen, in Verbindung zu treten.

Zum Zeitpunkt der Geburt ist diese Entwicklung noch nicht abgeschlossen. Es findet sich zunächst eine äußere Körnerschicht. Diese stellt eine Proliferationszone dar, aus ihr entwickeln sich Körnerzellen, Korbzellen und Sternzellen. Im Verlaufe wandern die Zellen diese Proliferationsschicht einwärts und umgeben die Purkinjezellen.

Die äußere Körnerschicht zeigt am 1. Lebenstag eine Breite von sechs bis acht Zellen, die sich aufgrund ihrer morphologischen Eigenschaften in zwei Zonen teilen, die innere (Prämigrationszone) und die äußere Proliferationszone. Bis zum 8. Lebenstag kommt es zum erheblichen Wachstum, somit zur Verbreiterung der Proliferationszone. Nach dem Tag 10 findet sich eine rapide Abnahme der Zelldichte sowie der Mitoserate. Am 21. Lebenstag sind in der Regel alle Zellen aus der äußeren Körnerschicht abgewandert. Die Purkinjezellen finden sich ab 5. Lebenstag deutlich differenziert und in Reihe angeordnet, um den Tag 9 ist eine Dendritenbildung auszumachen, die sich bis zum 12. Tag auswächst und zu verzweigen beginnt. Auch hier ist am 21. Lebenstag ein voller Dendritenbaum entstanden; somit ist an diesem Tag die Entwicklung des Rattenkleinhirns abgeschlossen (Addison 1911, Altmann 1972 a, b, c, Friede 1957).

Die Entwicklung des Kleinhirns der Ratte ist aufgrund seiner übersichtlichen Strukturen unter Normbedingungen gut untersucht (s.o.). Veränderungen, zum Beispiel unter dem Einfluß toxischer Agentien, können daher gut abgelesen werden.

Bei unseren Untersuchungen sollte nicht nur der Schadstoff per se, sondern auch die Auswirkungen in Abhängigkeit von der Expositionskonzentration be-

trachtet werden.

Hierzu wurden die als schwanger geltenden Muttertiere am Tag 1 der Schwangerschaft Konzentrationen von 500 ppm (Experiment I), 800 ppm (Experiment II) und 1 500 ppm (Experiment III) exponiert. Die Bedampfung erfolgte 24 Stunden/Tag während der gesamten Tragezeit. Nach erfolgtem Partus wurde ein Teil der Mütter jeder Gruppe mit ihren Würfen mit derselben Konzentration wie während der Schwangerschaft weiterbehandelt. Da eine Exposition von 1 500 ppm MEK für die Nachkommen tödlich war, wurde am 4. postnatalen Tag die n-Hexan- und n-Hexan/MEK-Konzentration auf 1 000 ppm reguliert (Experiment III). Diese Gruppen wurden bis zum 30. Lebenstag behandelt, ebenso wie die nicht weiterbegasten Tiere hinsichtlich ihrer Entwicklung und ihres Verhaltens beobachtet.

Für die histologischen und zytologischen Untersuchungen des Kleinhirns wurde ein Teil der Jungtiere der Experimente I, II und III am 1., 2., 4., 9., 21., 22. und 30. Tag getötet, um per Sektion makroskopische Veränderungen aufzudecken und das ZNS sowie stichprobenartig das PNS histologisch zu betrachten.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten weibliche Wistarratten mit einem Körpergewicht von 250 bis 350 g. Gefüttert wurde Altromin$^{(R)}$ (Altrogge/Lippe) und Wasser ad libitum.

Als Tag 1 der Schwangerschaft galt beim Experiment I der Tag, an dem die weiblichen und männlichen Tiere zusammengesetzt wurden, in den Experimenten II und III der positive Spermiennachweis, das heißt, ausgewählt als schwanger wurden weibliche Tiere, bei denen vaginal Spermien nachweisbar waren.

Die Tötung der Jungtiere erfolgte bis zum 7. Lebenstag durch Dekapitation, die älteren Tiere wurden zuvor mit CO_2 narkotisiert und die Gehirne vorsichtig präpariert, inspiziert und gewogen.

3.2 Chemikalien

Die Reagenzien stammten von der Firma Merck/Darmstadt. Der Reinheitsgrad der Lösungsmittel wurde mit gaschromatographischen Lösungsmittelanalysen gesichert und betrug für Methyl-Ethyl-Keton 99 % Reinheit (Merck Nr. 6014) und für n-Hexan 99 % Reinheit (Merck Nr. 4367).

3.3 Expositionsanlage

Die Expositionsanlage bestand aus luftdichten Plexiglaskammern mit einem Volumen von ca. 15 l, der Luftwechsel war ca. 20fach. Mit Hilfe von Wisapumpen wurde Luft in die Kammern geleitet. Das Lösungsmittel bzw. die

Gemische wurden durch Perfusoren (Firma Braun) über eine Fritte in ein Mischgefäß, dann mit der dort ebenfalls einströmenden Luft in die Kammern eingeleitet.

Der Luftstrom aus den Wisapumpen war fein regulierbar und wurde mit Rotametern und Gasuhren gemessen. Lösungsmittel und Luftdurchsatz wurden so korreliert, daß die gewünschte Lösungsmittelkonzentration in der Kammer bei ausreichendem Luftwechsel (250/l/h) entstand. Die Konzentration des Lösungsmittels wurde mittels Flammenionisationsdetektor (FID) überwacht, die n-Hexan-Konzentration konnte außerdem mittels Drägerröhrchen kontrolliert werden.

Sowohl Lufteinlaß als auch -auslaß waren gegen die Kammerinnenwände gerichtet, um Zugluft zu vermeiden und eine gleichmäßige Verteilung des Luft-Gas-Gemisches zu erreichen (Abb. 1).

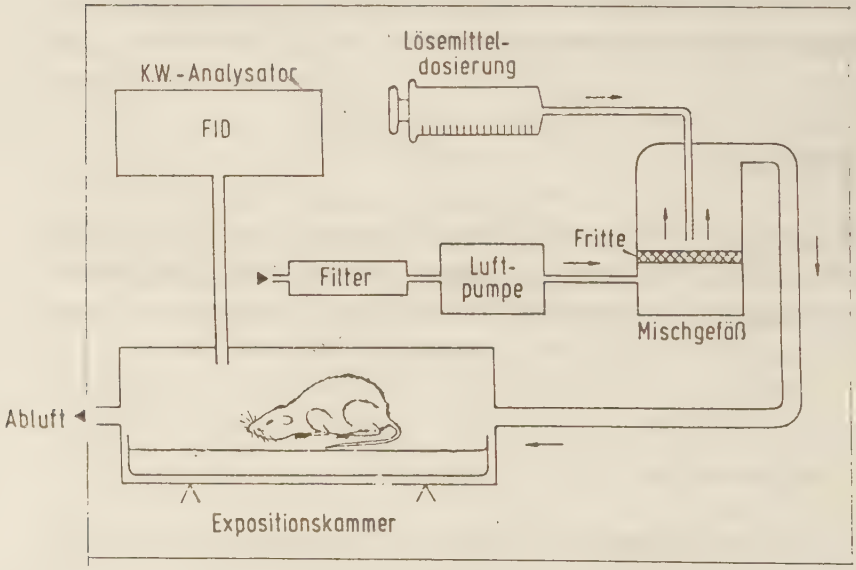

Abb. 1: Expositionsanlage

In jeder Kammer wurden jeweils vier Tiere gehalten. Sie erhielten Nahrung und Wasser ad libitum, die Expositionszeit betrug 24 Stunden pro Tag. Die Tiere wurden zweimal pro Tag mit Nahrung versorgt und gereinigt. Um die durch die Fäkalien der Tiere verursachte Ammoniakbildung als Störfaktor so gering wie möglich zu halten, wurde in die Käfige ein NaOH-getränktes Filterpapier eingelegt.

Abb. 2: Expositionsanlage zur Begasung von Ratten im Institut für Boden-, Wasser- und Lufthygiene, Berlin

3.4 Färbemethode zum Nachweis von Implantationsstellen am Uterus

Bei schwangeren Ratten, die die Schwangerschaft jedoch vorzeitig resorbiert haben, lassen sich die Implantationsstellen durch Eisenanreicherung

nachweisen. Dadurch kann bei den Muttertieren, die nicht geworfen haben, der Nachweis erbracht werden, daß sie schwanger waren, diese Schwangerschaft jedoch nicht ausgetragen haben.

Reagenzien:
10 % Ammoniumsulfidlösung
1 % HCl und 20 % Kaliumferrocyanid, 1 : 1 gemischt

Die präparierten frischen Uteri werden sofort in Ammoniumsulfidlösung gebracht, gespült und dann in dem HCl/Kaliumferrocyanid-Gemisch gefärbt. Die Implantationsstellen färben sich blauschwarz (Salewski 1964).

3.5 Histologische Methoden

Die Tötung der Tiere erfolgte am 1., 3., 7., 9., 21. Tag. Es wurden jeweils zwei bis drei Tiere jeder Gruppe untersucht, die Gehirne präpariert, gewogen und entsprechend der zur Anwendung kommenden histologischen Methode weiterverarbeitet.

3.5.1 Lichtmikroskopie

Für die lichtoptischen Untersuchungen wurden die Gehirnteile und die zu untersuchenden peripheren Nerven in 10 % Formalin mindestens 40 Stunden fixiert, dann gewaschen. Die Entwässerung wurde mit steigender Konzentration von Äthylalkohol erzielt (aufsteigende Alkoholreihe). Die Einbettung erfolgte in Paraffin (Paraplast) bzw. Celloidin nach ausreichender Entfernung des Alkohols. Es wurden 5 µ dicke Sagittalschnitte angefertigt und mit HE und Nissl (Toluidin-Gallocyanin) gefärbt, mikroskopisch befundet und photographisch dokumentiert.

3.5.2 Elektronenmikroskopie

Um die vorherige Gesamtperfusion mit Glutaraldehyd und somit totale Fixierung der Tiere zu vermeiden, wurden die für die Elektronenmikroskopie vorgesehenen Organteile in ca. 1 mm^3 große Blöckchen geschnitten. Somit war eine Durchfixierung der Stückchen bei Immersionsfixation sicher gewährleistet.

Als Waschlösung diente 0,2 molare Saccharose (mit Zusatz von 0,1 m Cacodylatpuffer), die bis zum Tage der Einbettung mehrmals gewechselt wurde. Anschließend erfolgte der Einbettungsprozeß im Automaten (Cacodylatpuffer → Nachfixierung mit 1 %iger OsO_4-Lösung → Cacodylatpuffer → aufsteigende Acetonreihe → Araldit stammlösung + 100 %iges Aceton 1 : 1. Bei der weiteren Verarbeitung per Hand wurden die Präparate nach einer Verweildauer von zwei bis drei Stunden in reiner Araldit stammlösung mit 2 %igem Beschleuniger eingebettet.

Nach Polymerisation des Kunstharzes und des Materials (48 Stunden bei 60 °C) wurden einzelne Blöcke zum Ausschneiden getrimmt und Semidünnschnitte (0,5 bis 1,0 µ) angefertigt. Diese nach Richardson gefärbten Schnitte wurden mikroskopisch ausgewertet und photographiert. Nach Anfertigung von Pyramiden auf der Schnittfläche des Materialblöckchens wurden Ultradünnschnitte (500 Å) erstellt. Das anschließend mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastierte Material wurde im Elektronenmikroskop Zeiss EM9 und EM10 untersucht und photographiert.

3.5.3 Golgi-Imprägnation

Silberimprägnationen sind für die Darstellung von Zellen des Nervensystems besonders geeignet. Dazu wird die Metallösung unter Reduktion des Metalls auf die darzustellenden Strukturanteile niedergeschlagen, so daß Totalbilder dieser Zellen durch Schwärzung ihrer gesamten Oberfläche entstehen. Für

eine modifizierte Imprägnation nach Golgi wurde folgende Lösung hergestellt: 1 g Kaliumchromat und 1 g Quecksilberchlorid wurden in 85 ml aqua dest. 15 Minuten lang erhitzt und anschließend mit einer zweiten Lösung vermischt, in der 0,8 g Kaliumchromat und 0,5 g Natriumwolframat in 20 ml aqua dest. gelöst waren. In dieser Lösung verweilten die Gehirne in toto für 20 Tage. Danach kamen die Präparate für 24 Stunden in eine Lösung aus Lithiumhydroxid und Kaliumnitrat und ebenfalls für 24 Stunden in eine 1 %ige Essigsäurelösung.

Abschließend wurde mit aqua dest. gewaschen. Die Einbettung der Gehirne erfolgte in Celloidin. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden 50 µ dikke Frontalserienschnitte angefertigt.

3.6 Histochemische Methoden

Die histochemischen Techniken weisen nicht die äußerst geringen Enzymmengen im Gewebe, sondern deren Aktivität nach. Durch Angebot von Substrat kommt es zum vermehrten Anfall von Reaktionsprodukten, die selbst ein Farbstoff sind bzw. in einer Folgereaktion an einen Farbstoff gekoppelt werden. So wird der Ort ihrer Aktivität optisch sichtbar.

Da durch Fixation die Enzymaktivität beeinflußt wird, ist diese Arbeitsweise zwangsläufig ein Kompromiß zwischen Histologie und Biochemie. Die besten Ergebnisse wurden an Gefrierschnitten beobachtet. So wurden im vorliegenden Fall die zu untersuchenden Gehirne in flüssigem Stickstoff bei - 70 ^{o}C eingefroren und dann mittels Kryotom-Technik geschnitten. Zum Nachweis der oxydativen Enzyme benutzten wir zwei Methoden:

3.6.1 Succinat-Dehydrogenase

Succinat-Dehydrogenase oxidiert Bernsteinsäure durch Wasserstoffentzug

zu Fumarsäure. Der Wasserstoff wird auf Tetrazoliumsalz übertragen und dieses so zu dem rotblauen Formazan reduziert (Nachlass et al. 1957). Die gefriergetrockneten Schnitte werden 5 bis 60 Minuten inkubiert, anschließend mit 10 %igem Formalin ca. 30 Minuten fixiert und nach Spülen mit aqua dest. in Glyceringelatine eingebettet.

3.6.2 NADH/NADPH-abhängige Dehydrogenasen

Der Nachweis der NADH/NADPH-abhängigen Dehydrogenasen, zum Teil auch Nitro-BT-(Nitro blue tetrazolium)Reduktasen genannt, erfolgt indirekt, indem ein Substrat durch Wasserstoffabgabe reduziert und somit als Farbstoff sichtbar gemacht wird. Der Nachweis ist nicht streng spezifisch, da eine Reihe der NADH/NADPH-abhängigen Enzyme der Atmungskette diese Reaktion katalysieren können. Der Wasserstoff wird durch das Enzym vom NADH bzw. NADPH auf Nitro-BT übertragen, das dadurch zu Nitro-BT-Formazan reduziert wird. Dieses erscheint an Orten hoher Enzymaktivität in dunkelblauer Farbe (Novikoff 1960).

4. ERGEBNISSE

4.1 Auswirkungen der Schadstoffexposition auf die Muttertiere während und nach der Schwangerschaft

4.1.1 Allgemeine Veränderungen

Wie bereits in anderen Arbeiten zur Schadstoffexposition festgestellt (Altenkirch et al. 1977, 1978/79, 1982, Hiort 1982, Stockdreher 1982), konnte auch hier die narkotische Wirkung der Schadensexposition und somit die erhebliche Müdigkeit der behandelten Tiere im Vergleich zu den Kontrollgruppen beobachtet werden. Weiterhin war auffallend eine außerordentliche Zunahme der Salivation, besonders bei den mit dem n-Hexan/MEK-Gemisch behandelten Tieren.

Nach ungefähr zwei Wochen Expositionsdauer zeigten sich Veränderungen in der Fellfärbung der Ratten. Im Nackenbereich und entlang der Wirbelsäule begann das Fell eine leicht rosa-braune Farbe anzunehmen. Die Haut der Tiere war in diesem Bereich mit bräunlichen Schuppen bedeckt, die sich leicht ablösen ließen.

Bei den mit niedrigen Konzentrationen behandelten Versuchstieren konnten die dargestellten Phänomene nicht beobachtet werden.

4.1.2 Lähmungserscheinungen

Die Neurotoxizität und die damit verbundenen Lähmungserscheinungen peripherer Nerven ist häufig beschrieben worden. Auch bei den Muttertieren, die mit hohen Konzentrationsgemischen behandelt wurden (Experiment III), wurde nach fünf Wochen Begasungszeit, das heißt während der Schwangerschaft und zwei Wochen postpartal, eine Hinterbeinschwäche mit aufgehobe-

nen Spreizreflexen festgestellt. Nach weiteren zwei Wochen fand sich bei diesen Tieren eine Parese der Hinterbeine, wie schon verschiedentlich beobachtet wurde.

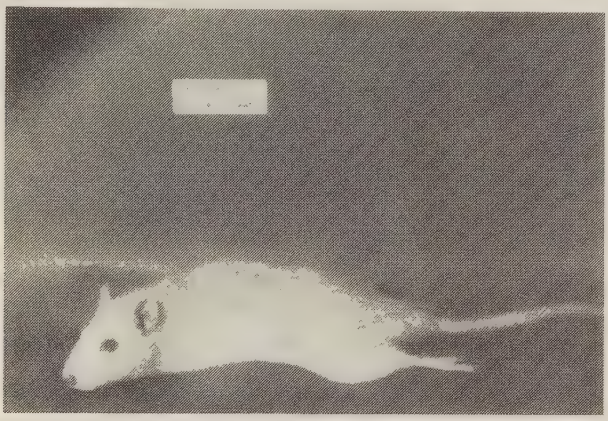

Abb. 3: Ratte mit Paresen der Hinterbeine nach n-Hexan/MEK-Intoxikation
Expositionsdauer: 5 Wochen, 7 Tage/Woche
Schadstoffkonzentration: 1 000 bis 1 500 ppm

Die mit 1 000 bis 1 500 ppm n-Hexan prä- und postnatal begasten Muttertiere zeigten im gleichen Zeitraum ausschließlich Schwäche mit Laufschwierigkeiten.

Histologisch ließen sich bei den geschädigten Tieren bei lichtoptischer Betrachtung in den peripheren Nerven (n. ischiadicus) die bereits mehrfach untersuchten Veränderungen nachweisen. Es kommt zu Schwellungen der Axone, zunächst multifocal paranodal. Die Axone schwellen auf das Mehrfache ihres Volumens an, die distalen Anteile gehen zugrunde. Weiterhin kommt es im Bereich der Anschwellung zur deutlichen Verschmälerung der Myelinscheiden. Distal der Anschwellung resultiert eine Zerstörung der Nerven (Abb. 4, 5). Die Axon- und Myelintrümmer peristieren als Myelinovoide (s. Abb. 6).

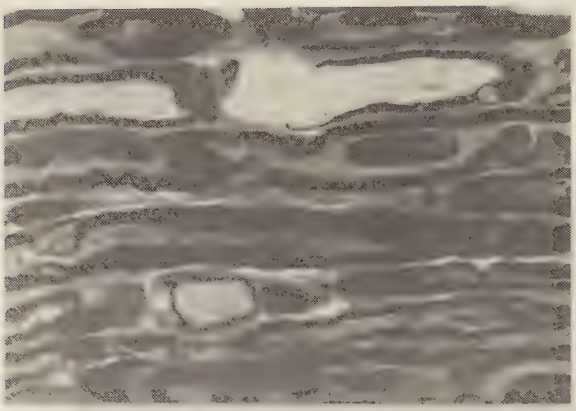

Abb. 4:

Längsschnitt des proximalen n. ischiadicus der Ratte nach n-Hexan-Intoxikation

Exposition:
50 Tage
24 Stunden/Tag
1 500 ppm

Vergrößerung
1 : 100

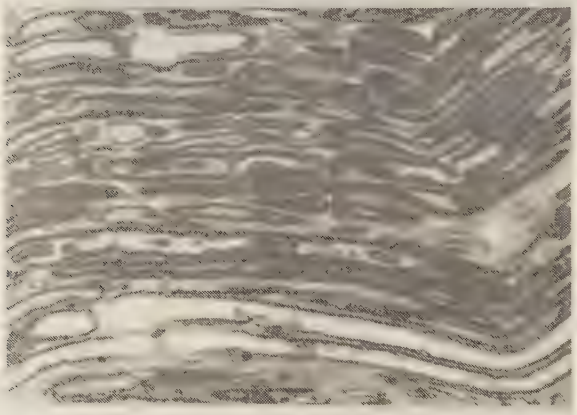

Abb. 5: (wie 4)

Vergrößerung
1 : 25

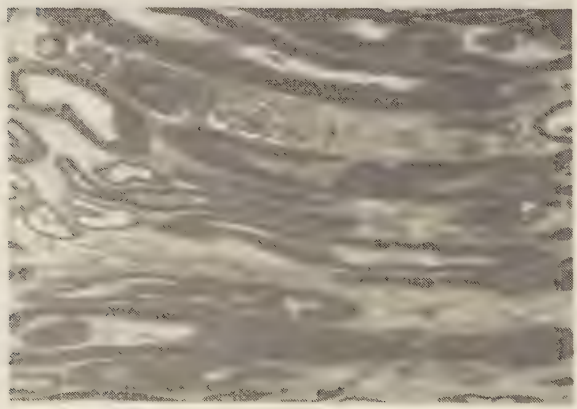

Abb. 6: (wie 4)

nach n-Hex/MEK-Intoxikation

Vergrößerung
1 : 40

Aufallend war, daß die Nervenschädigungen bei den Jungtieren nicht zum Tragen kamen. Auch bei prä- und postnataler Begasung zeigten die 30 Tage alten Jungtiere keine Störungen im Gangbild. Bei den nur präpartal behandelten Müttern wurden ebenfalls keine Schädigungen im Bereich der peripheren Nerven festgestellt, wie bei den Tieren, die mit niedrigen Konzentrationen behandelt wurden (Experimente I und II).

4.1.3 Gewichtsentwicklung der Muttertiere

Sämtliche in den Versuchen stehenden Muttertiere wurden mindestens einmal wöchentlich gewogen. Dabei konnte beobachtet werden, daß es bei gleichem Ausgangsgewicht und annähernd gleicher Wurfgröße zu einer mangelhaften Gewichtszunahme im Verlaufe der Schwangerschaft kommt. Bei den mit niedrigen Konzentrationen behandelten Tieren (Experiment I) ist dieser Befund nicht signifikant. Die hohen Konzentrationen exponierten Tiere (Experimente II und III) entwickeln sich deutlich schlechter. Es kommt trotz bestehender Schwangerschaft im Falle der mit 800 ppm n-Hexan behandelten Tiere zum Gewichtsverlust von 25 g, das heißt 25 % ihres Ausgangsgewichtes, die Tiere erreichen trotz bestehender Schwangerschaft ihr Ausgangsgewicht nicht. Die Gewichtsentwicklung während der Schwangerschaft zeigen die Abb. 7 und 8.

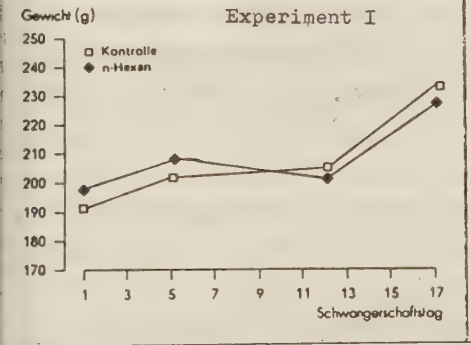

Abb. 7

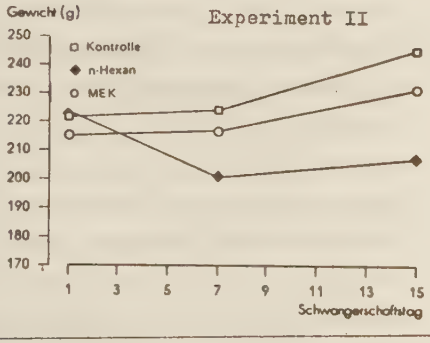

Abb. 8

Bei der Deutung der Gewichtszunahme der Muttertiere während der Schwangerschaft ist die Wurfgröße zu berücksichtigen.

Wurf-	500 ppm		800 ppm			1 000 bis 1 500 ppm			
größe	Ko	Hex	Ko	Hex	MEK	Ko	Hex	MEK	Hex/MEK
1				1					
2						1			
3									
4				1					
5				1		1			
6	1	1				1			
7			2			1			
8	2	1	1						
9	1	2			1			1	2
10		1	1	2	1	1		1	
11	1	4	1		1			1	
12	3	2	2	1	2	2	3		
13	1	2	1			1	1		2
14	1	1						1	

Abb. 9: Wurfgrößenverteilung bei den Experimenten I bis III

Bei den mit 500 ppm n-Hexan behandelten Tieren ist die Wurfgrößenverteilung ähnlich wie bei der Kontrollgruppe. Im Vergleich dazu haben die mit 800 ppm n-Hexan exponierten Tiere auffallend kleine Würfe, ebenso wie die Kontrollgruppe im III. Experiment (Abb. 9). Die Gewichtsentwicklung der Muttertiere postpartal ist mit früheren Experimenten zu vergleichen (Stockdreher 1982).

Das durchschnittliche Ausgangsgewicht p.p. von 217 g verringert sich bei der mit n-Hexan behandelten Gruppe um 32 g, das heißt 15 %, das der mit dem Gemisch behandelten Tiere um 15,6 % am 30. Tag p.p. Auffallend ist ein besonders rapider Gewichtsverlust zwischen dem 8. und 14. Tag p.p. (Abb. 10).

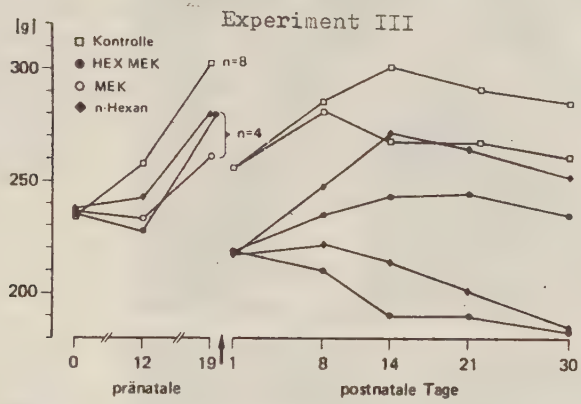

Abb. 10

4.1.4 Schwangerschaftsrate

Es ist bekannt, daß der mütterliche Organismus bei Schadstoffexposition eine vorliegende Schwangerschaft nicht austrägt, sondern es zum Abort kommt, bzw. im Falle der Ratte und anderer Nager die eingenistete Eizelle rückresorbiert wird (Barlow und Sullivan 1982, Popova et al. 1979).

In den vorliegenden drei Experimenten wurde die Auswahl der als schwanger erachteten Tiere nach drei verschiedenen Prinzipien betrieben. Im Experiment I wurden alle weiblichen Tiere, die Kontakt zu männlichen hatten, als schwanger betrachtet. Im Experiment II wurde bei allen weiblichen Tieren ein Vaginal-Abstrich gemacht. Fanden sich Spermien, galt das Tier als schwanger. Im III. Experiment wurde nach abgelaufener Schwangerschaft bei den als spermienpositiv, also schwanger geltenden Tieren der Uterus auf Implantationsstellen untersucht, sofern sie die Schwangerschaft nicht ausgetragen hatten.

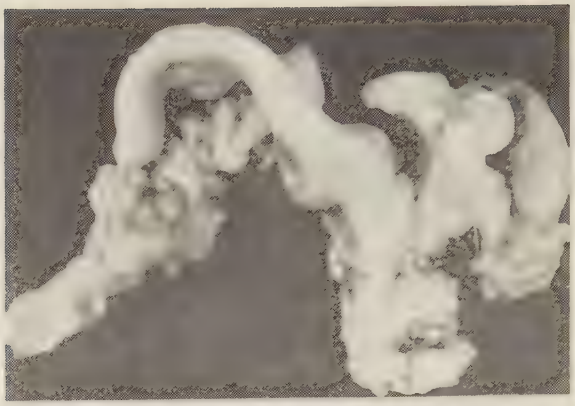

Abb. 11:

Uterus der Ratte mit früh abgestorbener Schwangerschaft

Exposition:
3 Wochen
24 Stunden/Tag
n-Hexan
1 500 ppm

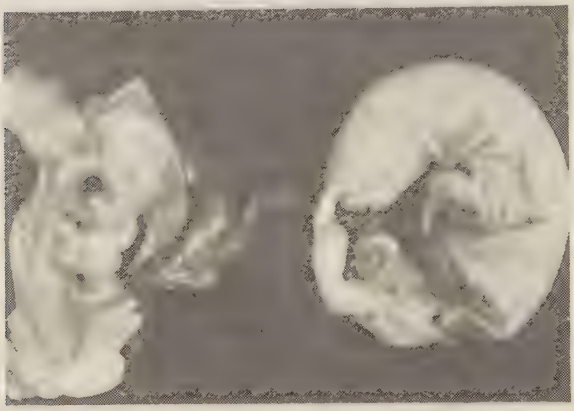

Abb. 12:

Uterus mit spät abgestorbener Schwangerschaft

Exposition:
3 Wochen
24 Stunden/Tag
n-Hex/MEK
1 500 ppm

Abb. 13:

Uterus mit vermehrten Gefäßinjektionen bei Resorption der Schwangerschaft

Exposition:
3 Wochen
24 Stunden/Tag
MEK 1 500 ppm

Die Abb. 14 zeigt eindeutig, daß die Tiere, bei denen der Spermiennachweis positiv war, schwanger wurden. Sämtliche spermienpositiven Kontrolltiere trugen die Schwangerschaft aus. Wie die Abb. 14 weiter zeigt, wurden bei allen Tieren, die spermienpositiv waren, jedoch die Schwangerschaft nicht ausgetragen haben, per Sektion entweder Zeichen eines frühen intrauterinen Fruchttodes (Abb. 12) oder Implantationsstellen wie bei resorbierter Schwangerschaft gefunden (Abb. 11). Im Falle einer Frühresorption sind makroskopisch keine Veränderungen am Uterus auszumachen, die Implantationsstellen zeichnen sich durch vermehrte Gefäßinjektion aus (Abb. 13). Nach Färbung können die Implantationsstellen deutlich dargestellt werden.

Betrachtet man rückwirkend das Experiment II, so ist anzunehmen, daß auch hier Schwangerschaftsresorptionen stattgefunden haben müssen. Dabei ist festzustellen, daß die intrauterine Mortalitätsrate eindeutig konzentrationsabhängig ist. Kommt es bei mit niedriger Konzentration behandelten Tieren bei 25 bis 37,5% zum frühen Fruchttod, tragen die höheren Konzentrationen ausgesetzten Mütter nur noch zu 50% die Schwangerschaft aus.

Exp. I: 500 ppm — Kein Spermiennachweis, keine Uterusfärbung (die Tiere wurden nur zusammengesetzt, keine Auswahl)

	n	ausgetragen	%
Kontrollen	16	10	62,5
n-Hexan	20	15	75,5

Ep. II: 800 ppm — Spermiennachweis keine Uterusfärbung (Auswahl der Spermienpos. ♀)

	n	ausgetragen	%
Kontrollen	8	8	100
n-Hexan	8	6	75
MEK	8	5	62,5

Abb. 14 a und b

Exp. III: 1000-1500 ppm	Spermiennachweis (Auswahl der Spermienpos. ♀)		Uterusfärbung	
	n	ausgetragen	%	Resorptionen
Kontrollen	8	8	100	–
n-Hexan	8	4	50	2 (2)
MEK	8	4	50	2 (2)
n-Hexan/MEK	8	4	50	2 (2)

Abb. 14 c

Vergleicht man nun retrospektive die Zahl der ausgetragenen Schwangerschaften mit der Wurfgrößenverteilung des Experiments III, so fällt auf, daß die behandelten Mütter, wenn sie die Schwangerschaft austrugen, vergleichsweise ebensoviel Junge hatten wie die Kontrollgruppe. Eine teilweise Resorption ist damit ausgeschlossen. Die Entwicklung der Schwangerschaft bei Schadstoffexposition scheint dem Alles-oder-Nichts-Prinzip zu folgen.

4.2 Entwicklung der Jungtiere

4.2.1 Gewichtsentwicklung der Jungtiere

Ebenso wie die Muttertiere wurden die Neugeborenen regelmäßig gewogen, um das Maß der Mangelentwicklung durch die Schadstoffexposition erkennen zu können. Wie bereits erwähnt, wurde sowohl für Experiment II als auch III jede Gruppe nochmals aufgeteilt, so daß je zwei Muttertiere mit ihren Jungen unter den gleichen Bedingungen wie während der Schwangerschaft den Schadstoffinhalationen ausgesetzt wurden.

Vergleichend kann gesagt werden, daß die Jungtiere, die keinem Schadstoffeinfluß unterlagen, eine regelmäßige Gewichtsentwicklung zeigten, die mit

500 ppm begasten Jungtiere unter Berücksichtigung des niedrigeren Ausgangsgewichts dennoch eine geringe Körpergewichtsreduktion aufwiesen. Diese Vergleiche wurden angestellt bei Jungtieren, die mit annähernd gleichvielen Geschwistern aufwuchsen (Wurfgröße 9 bis 10).

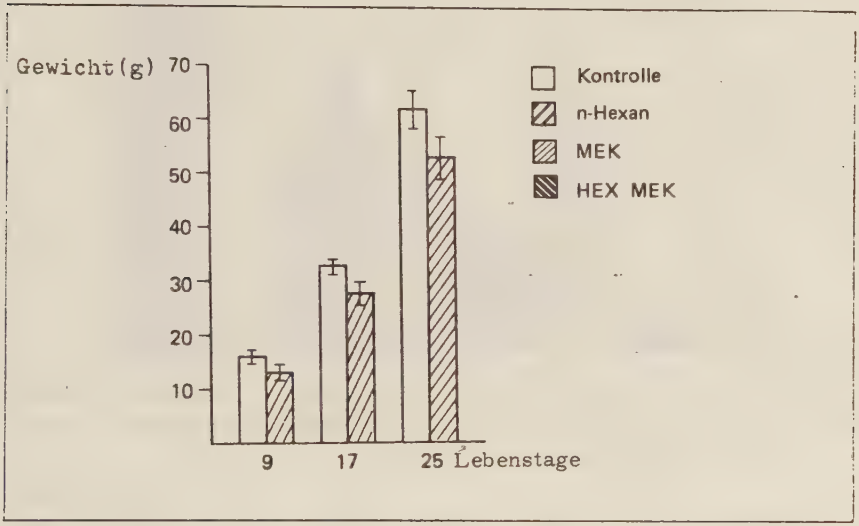

Abb. 15: Experiment I: Körpergewichte der Jungtiere; Exposition: pränatal, n-Hexan 500 ppm, Kontrollen

Im Experiment III zeigt sich ein deutlicher Minderwuchs bei den mit n-Hexan und dem Gemisch behandelten Tieren. Die Exposition von MEK führt nicht zum Minderwuchs, die Jungtiere entwickeln sich wie die entsprechende Kontrollgruppe.

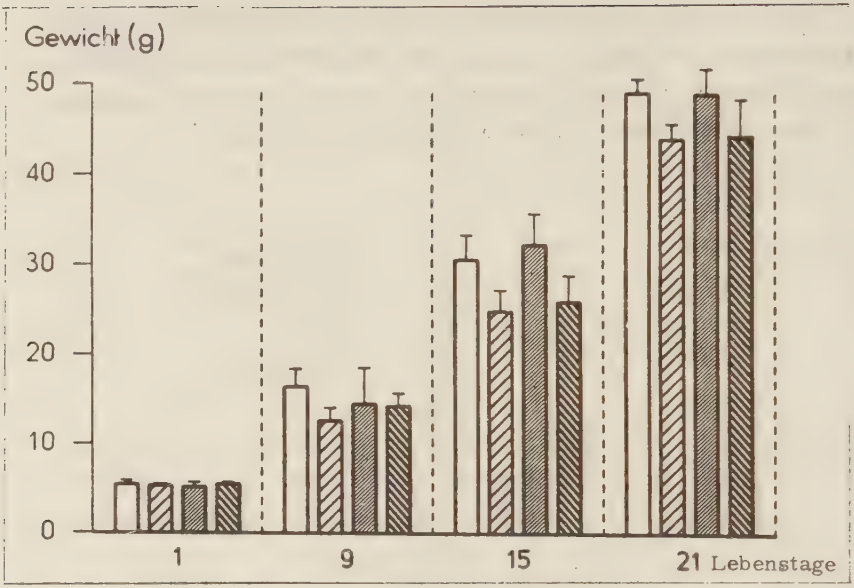

Abb. 16: Experiment III: Körpergewichte der Jungtiere; Exposition: pränatal, 1 500 ppm

Anders verhält es sich mit der postnatalen Entwicklung der Tiere, die nach der Geburt weiter schadstoffexponiert wurden. Wie die Abb. 17 und 18 zeigen, kommt es bei den Kontrolltieren zu einer durchschnittlichen Gewichtszunahme von 36 g (Experiment II) bzw. 34,8 g (Experiment III) bei einem Ausgangsgewicht von 6,08 g bzw. 5,88 g.

Es besteht eine signifikante Minderentwicklung sowohl der mit niedrigen Konzentrationen als auch der mit 1 000 ppm begasten Tiere.

Die Abb. 17 und 18 zeigen die Entwicklung des Körpergewichts der Jungtiere, die auch nach der Geburt weiterbegast wurden. Es zeigt sich die deutliche Minderentwicklung der behandelten Tiere, die konzentrationsabhängig ist. Das gilt besonders für MEK-exponierte Tiere (Experiment II) sowie für die dem Gemisch ausgesetzten (Experiment III), die am 30. Lebenstag nicht das Körpergewicht einer 21 Tage alten gesunden Ratte erreichen.

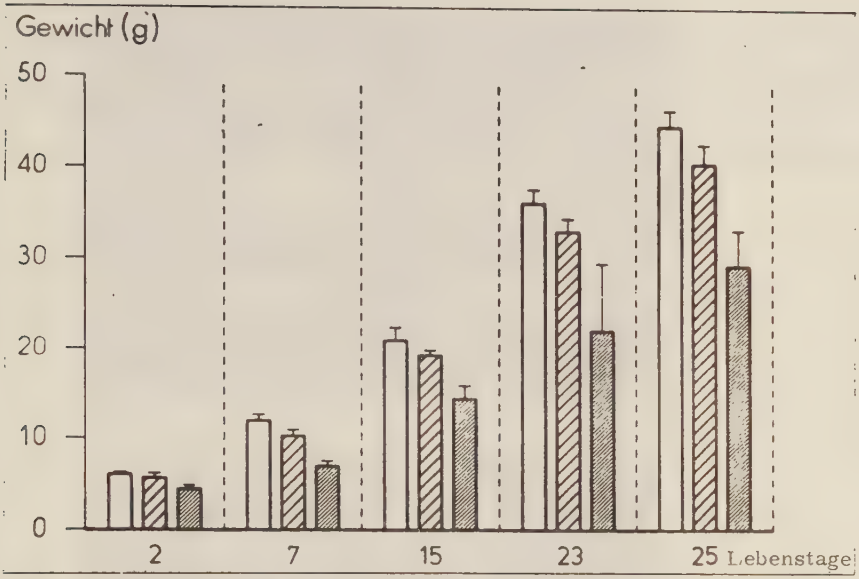

Abb. 17: Experiment II: Körpergewichte der Jungtiere; Exposition: prä- und postnatal, 800 ppm

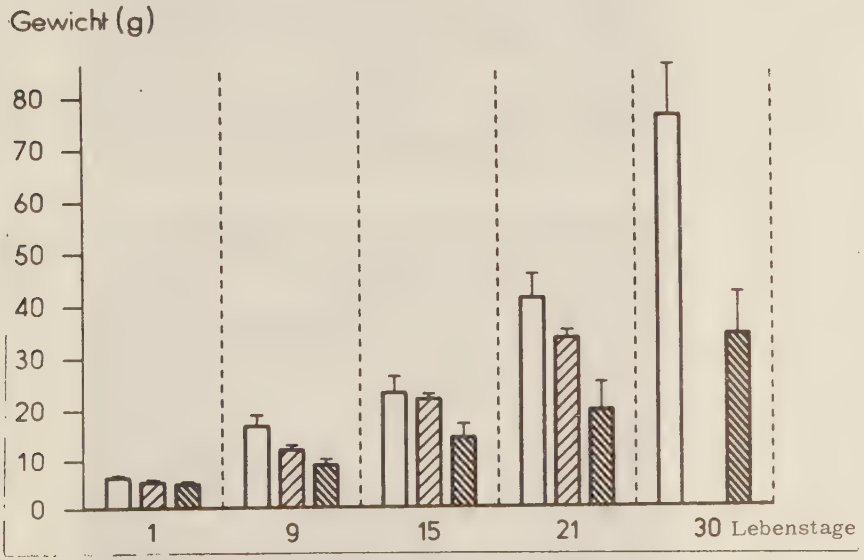

Abb. 18: Experiment III: Körpergewichte der Jungtiere; Exposition: prä- und postnatal, 1 000 bis 1 500 ppm

Die tabellarisch aufgelistete Gewichtsentwicklung zeigt sich auch makroskopisch. Die nachfolgenden Fotos zeigen Kontrolltiere im Vergleich mit pränatal sowie postnatal behandelten Jungtieren an den unterschiedlichen Lebenstagen.

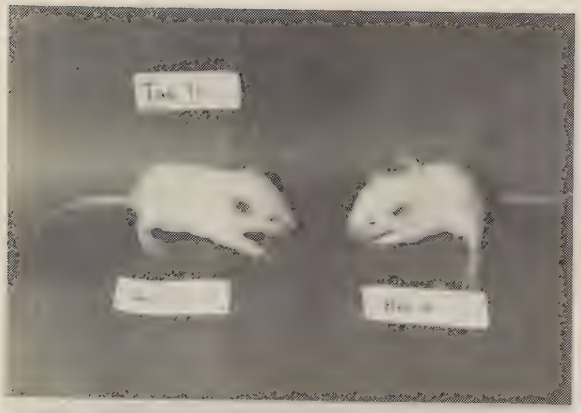

Abb. 19

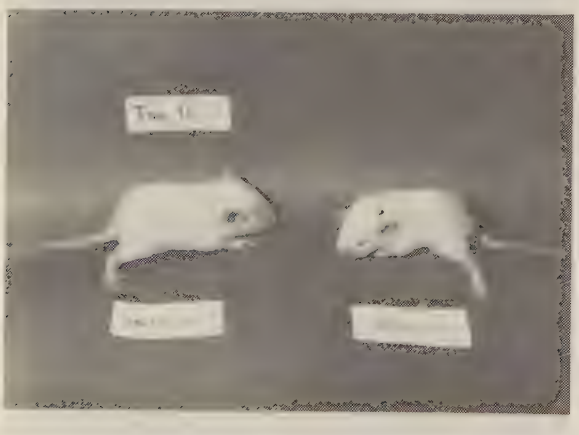

Abb. 20

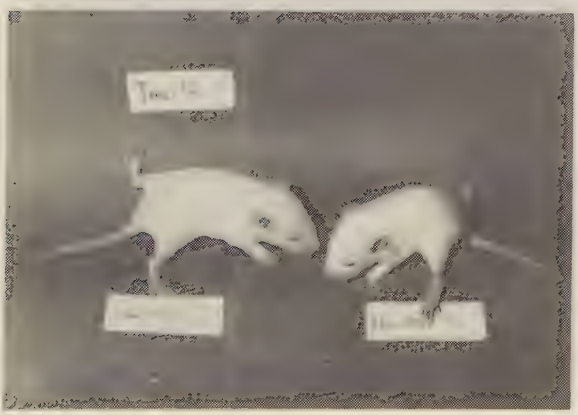

Abb. 21

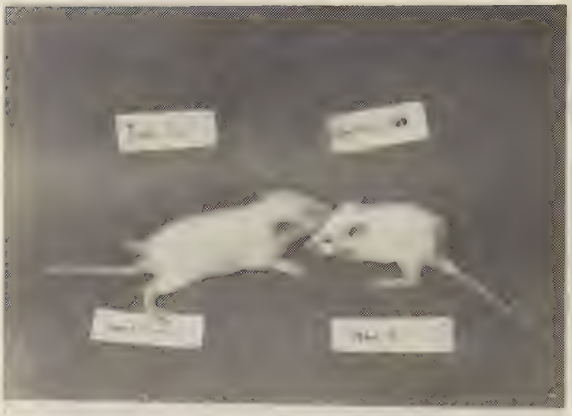

Abb. 22

Abb. 23

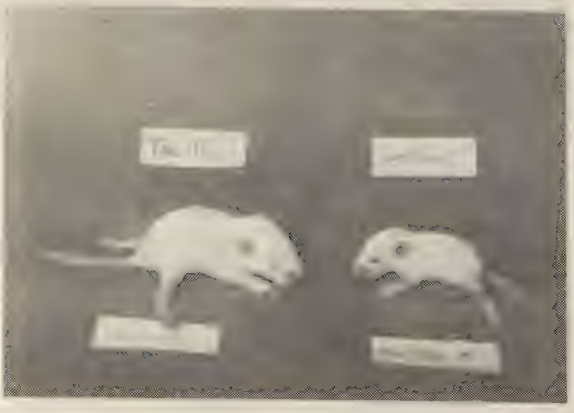

Abb. 24

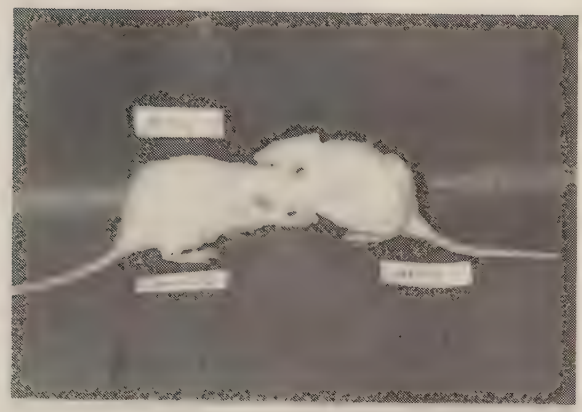

Abb. 25

Abb. 26

4.2.2 Gehirnentwicklung

Bereits makroskopisch fallen vergleichend deutliche Größenunterschiede der Gehirne von Kontrolltieren zu behandelten auf. Der Unterschied ist besonders groß bei den postnatal weiterbegasten Tieren.

Abb. 27: Rattengehirne

Experiment III am 9. Lebenstag

Exposition:

n-Hexan prä- und postnatal

n-Hexan pränatal

Kontrolle

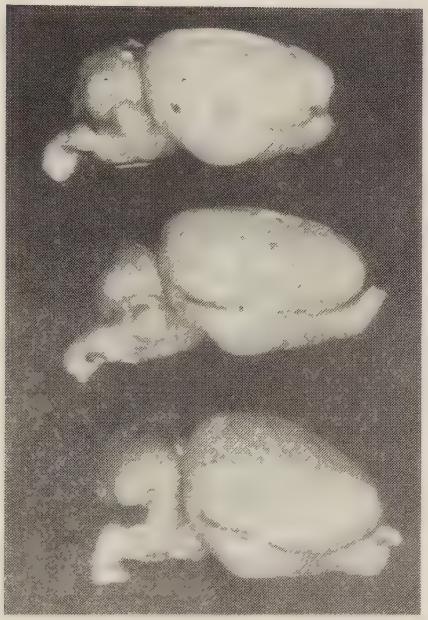

Abb. 28: Rattengehirne

Experiment III am 16. Lebenstag

Exposition:

n-Hexan/MEK prä- und postnatal

n-Hexan/MEK pränatal

Kontrolle

Abb. 29: Rattengehirne

Experiment III am 21. Lebenstag

Exposition:

n-Hexan prä- und postnatal

n-Hexan pränatal

Da jedoch kleine Tiere auch kleinere Gehirne haben, muß beim Bewerten von Gewichtsreduktion das Körpergewicht in Korrelation gesetzt werden.

So stellt sich heraus, daß die Kontrolltiere zunächst aufgrund ihres Wachstumsspurtes deutlich kopflastig sind (Jackson 1913) und daß nach einem Maximum am 7. Lebenstag das Körpergewicht nachzieht. Diese Befunde konnten auch bei nur pränatal begasten n-Hexan-Tieren mit niedrigen Konzentrationen erhoben werden, es kommt zur identischen Hirnentwicklung, so daß man von einer harmonischen Hypotrophie sprechen kann.

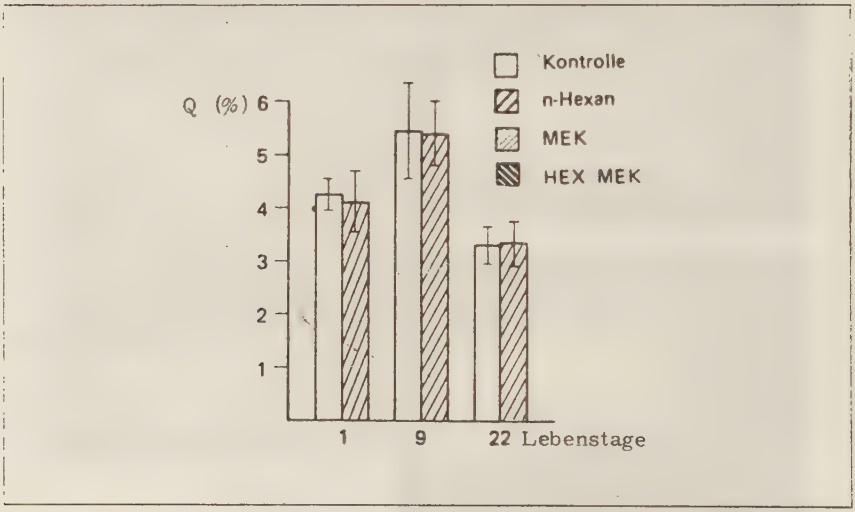

Abb. 30: Experiment I: Hirngewichte in % des Körpergewichtes der Jungtiere; Exposition: pränatal, n-Hexan, Kontrollen

Werden die Tiere über die Geburt hinaus dem Schadstoff ausgesetzt, bleibt die Entwicklung des Körpers umso extremer hinter der des Gehirnes zurück. Vom 4. postnatalen Tag an verschiebt sich besonders im Falle der n-Hexan/MEK-Exposition der Quotient eindeutig zugunsten des Kopfes (Abb. 31).

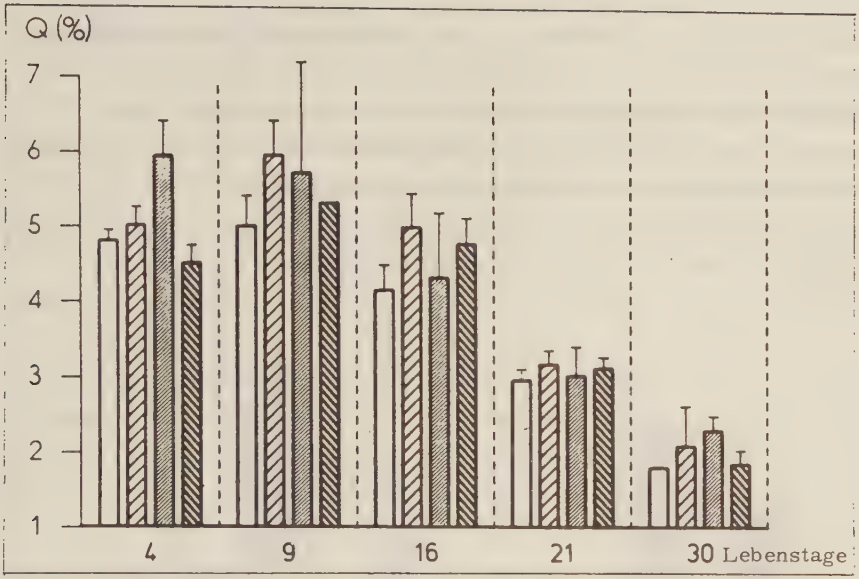

Abb. 31: Experiment III: Hirngewichte in % des Körpergewichtes der Jungtiere; Exposition: 24 Stunden/Tag, pränatal

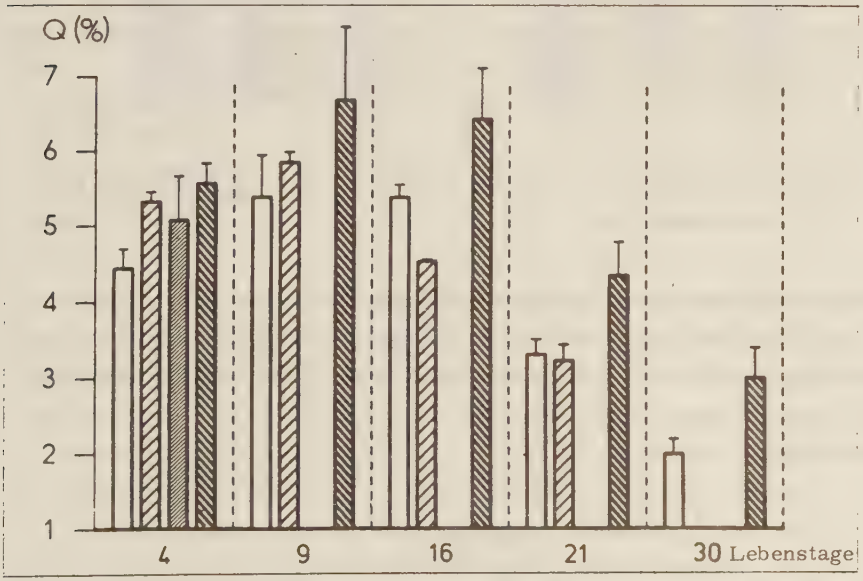

Abb. 32: Experiment III: Hirngewichte in % des Körpergewichtes der Jungtiere; Exposition: 24 Stunden/Tag, prä- und postnatal

Vergleichsweise dazu werden die Tiere im Experiment II mikrozephal geboren; werden sie nicht weiterbehandelt, bleibt hier die Körpergewichtsentwicklung zurück (Abb. 33). Das Verhältnis verschiebt sich zugunsten des Hirngewichtes. Bei Weiterbegasung postnatal zeigt sich noch deutlicher die Kopflastigkeit der körperlich sehr kleinen Tiere (Abb. 34).

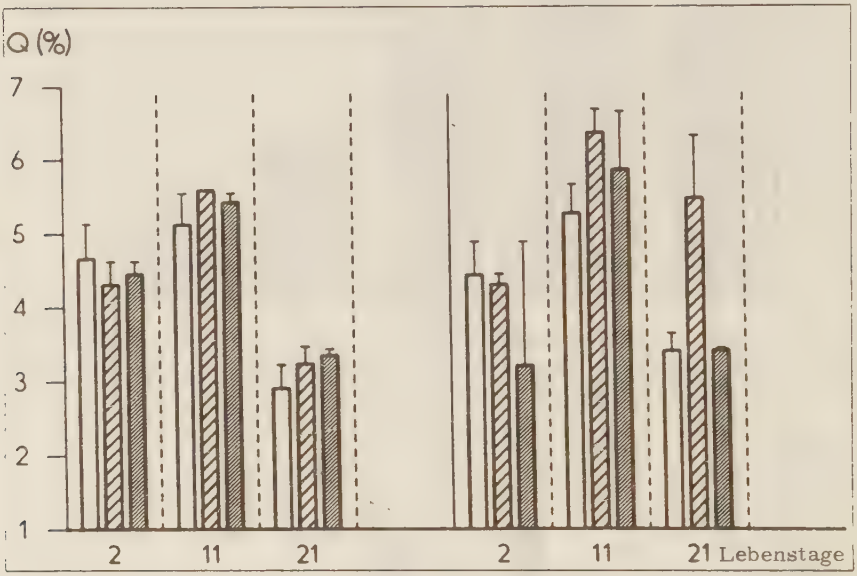

Abb. 33: Experiment III; pränatal Abb. 34: prä- und postnatal Hirngewichte in % der Körpergewichte der Jungtiere; Exposition: 24 Stunden/Tag

Bei den mit sehr hohen Konzentrationen behandelten Tieren ist dieser Befund ebenfalls eindeutig erkennbar. Bei nur pränataler Exposition kommt es offensichtlich nach anfänglicher Kopflastigkeit zum Aufholwachstum des Körpers, und somit erfolgt die Angleichung an die Entwicklung der Kontrollgruppe (Abb. 31).

4.2.3 Enzymhistochemie

Sämtliche Retardierungseffekte des Kleinhirns bei nur prä- sowie prä- und postnataler Lösungsmittelexposition hoher Konzentration (Experiment III) lassen sich durch enzymhistochemische Techniken nachweisen. Besonders aufschlußreich sind diese Untersuchungen für die Entwicklung der Purkinjezellen, die reich an oxidativen Enzymen sind. Auch die Entwicklung der Dendritenverzweigungen können gut dargestellt werden.

Bereits am 5. Lebenstag lassen sich deutlich die einzelnen Schichten des Kleinhirns abgrenzen: die äußere Körnerschicht, die darunterliegende reaktionsfreie Zone der Molekularschicht und anschließend die intensiv reagierende Purkinjezellschicht (Friede 1957).

Im vorliegenden Experiment wurden die Versuchstiere am 9. Lebenstag untersucht. Das Kontrolltier zeigt noch deutlich die äußere Körnerschicht, jedoch ist schon eine gradlinige, ungeordnete innere Körnerschicht sichtbar. Besonders eindrucksvoll heben sich die Purkinjezellen ab. Sie sind in Reihe angeordnet und zeigen eine hohe Enzymaktivität. Reichlich Dendritenbildung ist erkennbar, die Molekularschicht ist breit (Abb. 35, 40).

Im Vergleich dazu ist die Kleinhirnentwicklung der mit sehr hohen Schadstoffkonzentrationen nur pränatal behandelten Tiere bereits retardiert (Experiment III). Die Purkinjezellen liegen dicht beieinander, sind ungeordnet; eine Dendritenbildung oder deren Verästelungen sind nicht erkennbar (Abb. 34, 37), die Molekularschicht ist wesentlich schmaler (Abb. 38, 41). Besonders gravierend ist dieser Retardierungseffekt bei den prä- und postnatal begasten Tieren. Am 9. Lebenstag stehen diese auf der Entwicklungsstufe einer ungefähr fünf Tage alten gesunden Ratte. Dies ist gut an den Purkinjezellen zu erkennen, die weder in Reihe angeordnet sind noch Dendriten oder -verästelungen aufweisen. Die innere Körnerschicht ist wenig aktiv, die Molekularschicht ist schmal (Abb. 36, 38, 39, 42, 43).

Auch hier läßt sich eine eindeutige Korrelation zwischen Entwicklungsrückstand und Körpergewicht herstellen; je niedriger das Körpergewicht, umso verzögerter die Kleinhirnentwicklung.

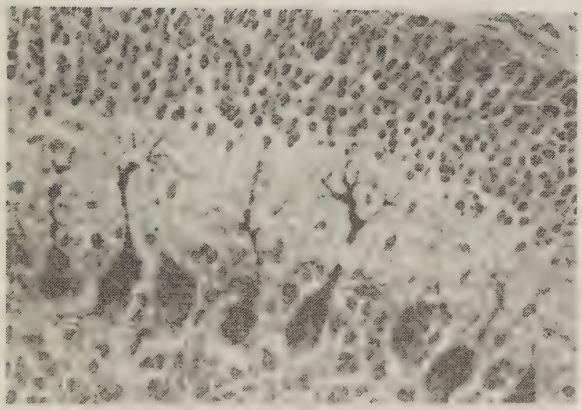

Abb. 35:

Experiment III: Gefrierschnitte der Kleinhirnrinde; Enzymhistochemie NADH-TR; Vergrößerung 3,2 x 40

Kontrolle am 9. Lebenstag

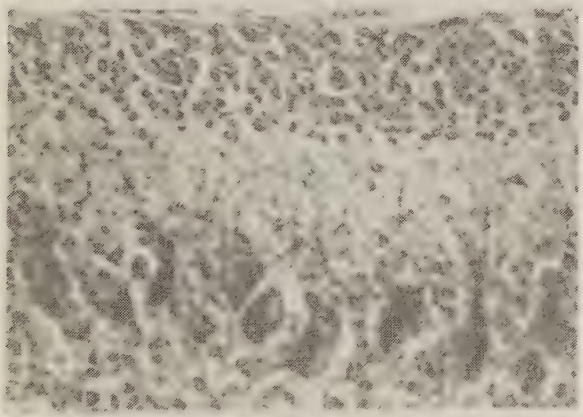

Abb. 36: (wie 35)

Exposition: n-Hexan, prä- und postnatal

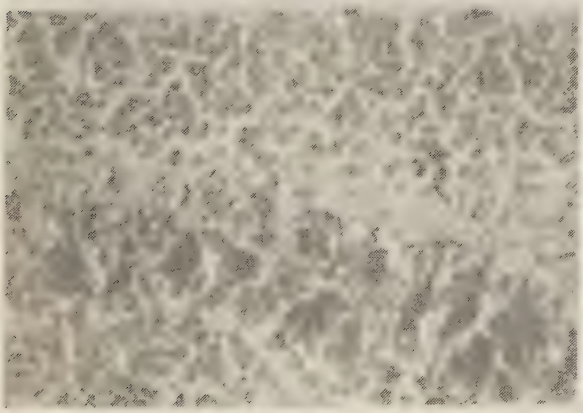

Abb. 37: (wie 36)

Exposition: MEK, pränatal

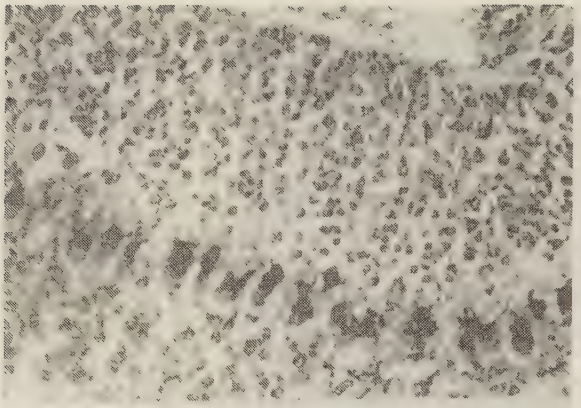

Abb. 38: (wie 36)

Exposition:
n-Hexan/MEK,
prä- und postnatal

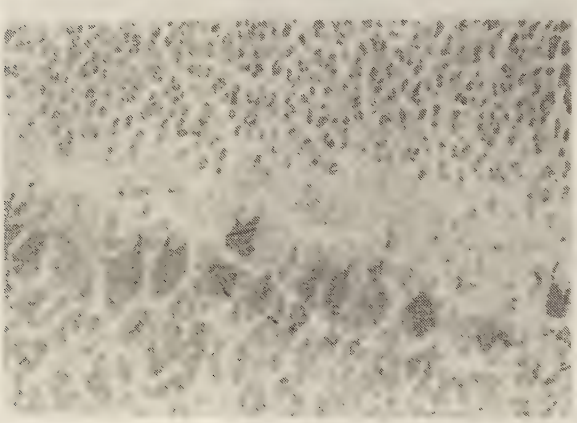

Abb. 39: (wie 36)

Exposition:
n-Hexan/MEK,
prä- und postnatal

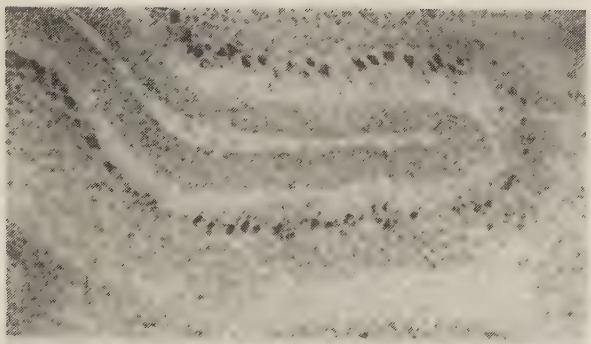

Abb. 40:

Experiment III: Gefrierschnitt der Kleinhirnrinde; Enzymhistochemie NADH-TR; Vergrößerung 3,2 x 10 x 3,5

Kontrolle am 9. Lebenstag

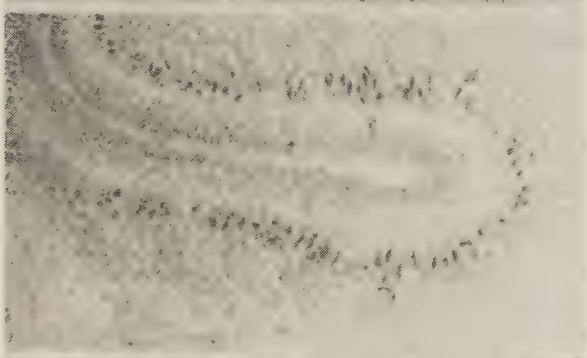

Abb. 41: (wie 40)

Exposition: MEK, pränatal

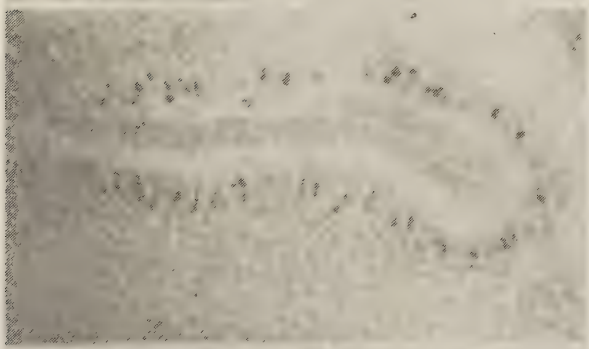

Abb. 42: (wie 40)

Exposition: n-Hexan, prä- und postnatal

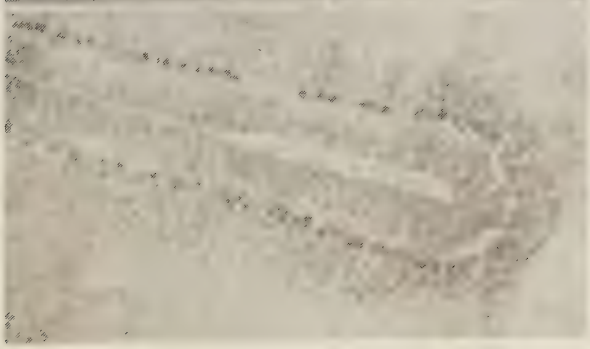

Abb. 43: (wie 40)

Exposition: n-Hexan/MEK, prä- und postnatal

4.2.4 Lichtmikroskopische Golgiimprägnation

Die retardierte Gehirnentwicklung läßt sich, wie oben beschrieben, an der Ausbildung der Purkinjezellen und deren Dendritenverzweigungen erkennen.

Am 21. Lebenstag ist die Kleinhirnentwicklung bei der Ratte weitgehend abgeschlossen. Die Purkinjezellen sind voll entwickelt, vom Zellkörper geht ein Stamm aus, der sich zunächst in zwei Hauptäste verzweigt. Von diesen gehen reichlich Verästelungen aus, die beim voll ausgereiften Kleinhirn bis zur Oberfläche reichen (Abb. 44).

Bei den mit 500 ppm pränatal begasten Jungtieren scheint am 21. Lebenstag der Dendritenstamm kürzer, die Verzweigungen sind ähnlich reichlich, reichen jedoch nicht bis an die Oberfläche des Gyrus heran (Abb. 45). Die äußere Körnerschicht wirkt schmaler, wobei aber auch die mehr tangentiale Schnittebene berücksichtigt werden sollte.

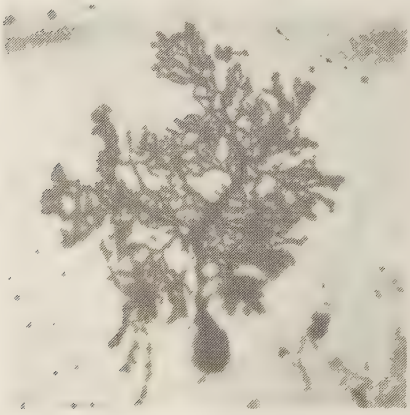

Abb. 44: Experiment I: Purkinjezelle; Kontrolle

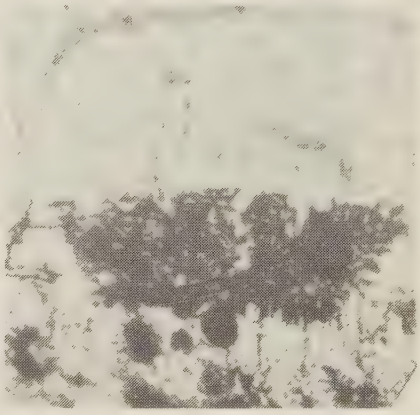

Abb. 45: Experiment I: Purkinjezelle; Exposition: n-Hexan, pränatal

4.2.5 Lichtmikroskopische Gefrierschnitte

Anhand von Gefrierschnitten zeigt sich ebenfalls eine deutliche Verzögerung in der Entwicklung der Zellen des Kleinhirns. Auch hier findet sich bei den Kontrolltieren eine normale Histogenese.

Am 1. Lebenstag zeigt sich die äußere Körnerschicht ca. zehn Zellagen breit, sie teilt sich in eine innere Prämigrationszone und eine äußere Proliferationszone. Die Purkinjezellen sind angedeutet. Am 9. Lebenstag, an dem auch hier besonders ausgiebig untersucht wurde, stellt sich eine noch breite äußere Körnerzellschicht dar, es hat jedoch eine Wanderung nach innen stattgefunden; die Molekularschicht als Ausdruck des Dendritenwachstums der Purkinjezellen ist breit. Die Purkinjezellen sind in regelmäßiger Schicht angeordnet.

Bei den behandelten Tieren zeigen sich die unruhig angeordneten Purkinjezellen, es findet sich besonders bei den prä- und postnatal begasten Jungen eine mangelhafte Ausbildung der Dendriten, wie an der äußerst schmalen Molekularschicht abzulesen ist. Die äußere Körnerschicht ist breit, die Migration nach innen ist deutlich verzögert (Abb. 46 bis 48). Auch hier läßt sich ein Zusammenhang zwischen Körpergewicht und Entwicklungsstand feststellen.

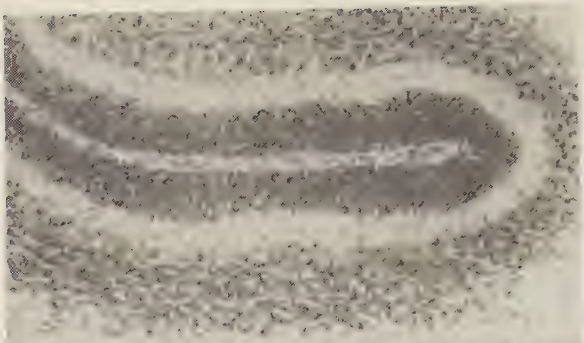

Abb. 46:

Experiment III: Gefrierschnitt der Kleinhirnrinde, HE-Färbung; Vergrößerung 3,2 x 18 x 3,5

Kontrolle am 9. Lebenstag

Abb. 47: (wie 46)

Exposition: MEK, pränatal

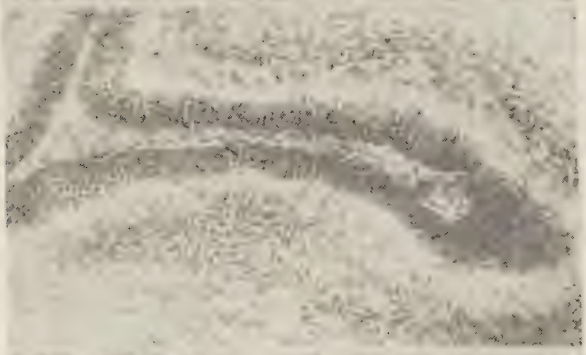

Abb. 48: (wie 46)

Exposition: n-Hexan, prä- und postnatal

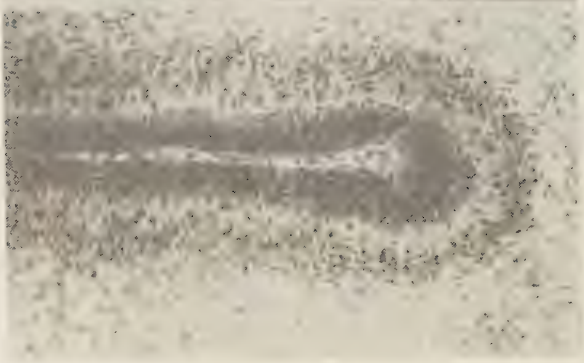

Abb. 49: (wie 46)

Exposition: n-Hexan/MEK, prä- und postnatal

4.2.6 Elektronenmikroskopische Schnitte

Stichprobenartig wurden bei den behandelten Tieren Kleinhirnzellen elektronenoptisch untersucht. Dabei zeigen sich bereits bei einer Expositionskonzentration von 500 ppm (Experiment I) bei nur pränataler Verabreichung auffallende Retardierungseffekte der Zytogenese. Während beim Kontrolltier die Purkinjezellen altersentsprechend entwickelt sind, findet sich beim Versuchsjungen ein unterentwickeltes Zytoplasma mit wenig Organellen, RES ist kaum vorhanden, die Anzahl freier Ribosomen ist deutlich vermindert (Abb. 50, 51).

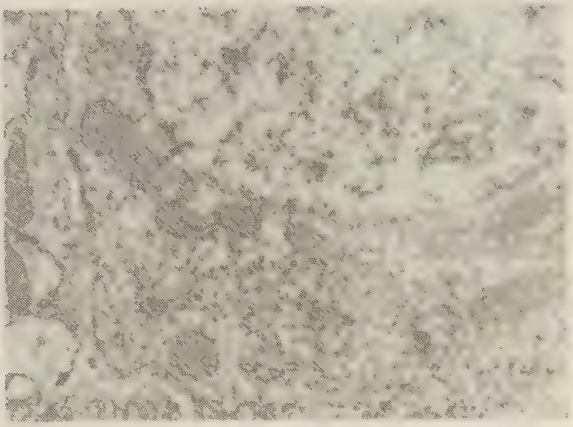

Abb. 49: Experiment I: Ausschnitt einer Purkinjezelle des Rattenkleinhirns, zahlreiche Organellen im Zytoplasma, gut ausgebildetes ER, reichlich Ribosomen; Exposition: 24 Stunden/Tag, 9. Lebenstag, Kontrolle

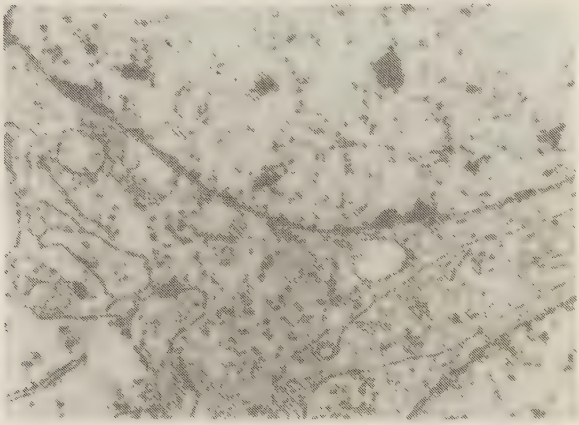

Abb. 50: Experiment I: Ausschnitt einer Purkinjezelle des Rattenkleinhirns, unterentwickeltes Zytoplasma, verminderte Organellenzahl; Exposition: 24 Stunden/Tag, 9. Lebenstag, n-Hexan, pränatal

5. DISKUSSION

In verschiedenen Untersuchungen wurde auf die Toxizität, speziell die Neurotoxizität von organischen Lösungsmitteln, insbesondere der Alkane, Ketone und Alkohole, eingegangen (Krasavage et al. 1980, Mendell et al. 1977, Spencer et al. 1975, Yamamura 1969). Es ist bekannt, daß das Maß an Schädigung sowohl dosisabhängig als auch abhängig von der Metabolisierungsrate des Lösungsmittels ist (Baker/Rickert 1981, Bus et al. 1981, Hiort 1980). So lassen sich eindeutig Potenzierungseffekte darstellen, die durch eine verstärkte Metabolisierung des entsprechenden Lösungsmittels hervorgerufen werden.

Betrachtet man zunächst die Entwicklung der Ratte während der Tragezeit, fällt auf, daß die Tiere nicht ausreichend an Gewicht zunehmen. Diese mangelnde Gewichtsentwicklung ist besonders bei n-Hexan-Exposition zu beobachten und bestätigt vorhergegangene Befunde (Stockdreher 1982). n-Hexan hat eine erhebliche narkotische Wirkung (Henschler 1980) und ruft daher eine gewisse Freßunlust und mangelnde Nahrungsaufnahme hervor (Krasavage et al. 1979, O'Donoghue et al. 1982). Die mangelnde Gewichtszunahme ist umso ausgeprägter, je höher die Expositionskonzentration des n-Hexan ist.

Im Vergleich dazu nehmen die mit MEK begasten Muttertiere deutlich besser zu, wobei ebenfalls eindeutig eine Konzentrationsabhängigkeit zu beobachten ist. Erst bei sehr hohen MEK-Konzentrationen (Experiment III, 1 500 ppm) nehmen die tragenden Tiere unzureichend zu. Hiermit können die Befunde von Deacon (1981) bestätigt werden, der bei diskontinuierlicher Behandlung von 3 000 ppm MEK mangelnde Gewichtszunahmen beobachtete. Schwetz (1974) begaste ebenfalls diskontinuierlich und stellte sowohl bei einer Expositionsdosis von 1 000 ppm MEK und 3 000 ppm MEK kaum Gewichtsunterschiede im Vergleich zu den Kontrolltieren fest.

Begasung mit dem n-Hexan/MEK-Gemisch faßt die Einzelbeobachtungen zu-

sammen, wobei die Gesamtkonzentration ausschlaggebend ist. Ein Potenzierungseffekt durch das MEK scheint nicht vorzuliegen.

Die Schädigung, die eine chronische Schadstoffexposition auf den werdenden Organismus hat, das heißt die Embryo- bzw. Fetotoxizität, ist wenig untersucht. Vom Alkohol ist bekannt, daß es zu erheblichen Mißbildungen des Kindes kommt, sofern die Mutter während der Schwangerschaft chronisch Alkohol zu sich nimmt. Es zeigt sich ein typisches Krankheitsbild, so daß vom fetalen Alkoholsyndrom gesprochen wird (Borteyra 1967, Jones und Smith 1973, Lamache 1967). 1979 fiel Toutant und Lippmann ein Kind auf, das eine toluolexponierte Mutter geboren hatte. Das Neugeborene ähnelte dem klassischen Alkoholsyndrom, obwohl die Mutter während der Schwangerschaft nicht übermäßig Alkohol zu sich genommen hat. Es stellt sich daher die Frage, ob es sich hier um ein Lösungsmittelsyndrom handeln könnte.

In der vorliegenden Arbeit wurde nun der Versuch gemacht, dieser Frage im Tierexperiment nachzugehen. Ein Maß für die Embryo- bzw. Fetotoxizität bei Nagern ist sowohl die Zahl der Rückresorptionen der Schwangerschaft als auch ein mangelhaftes Geburtsgewicht der Jungtiere (Kuna und Kapp 1981). Eben dieses konnte auch hier nachgewiesen werden.

In vergleichbaren Untersuchungen von Schwetz et al. (1974) wurden bei Exposition mit 1 000 ppm und 3 000 ppm MEK 7 Stunden pro Tag keinerlei Hinweise auf Embryotoxizität aufgezeigt. Ebenso fand Deacon (1981), der schwangere Ratten aufsteigenden Dosen MEK (0-400-1 000-3 000 ppm) aussetzte, keine höhere Resorptionsrate gegenüber den Kontrollgruppen. Es muß jedoch berücksichtigt werden, daß in diesen Untersuchungen die schwangeren Tiere ausschließlich während der sogenannten sensiblen Phase exponiert wurden, das heißt vom 6. bis 15. Tag der Tragezeit. n-Hexan-Begasung während dieser Zeit und später führt ebenfalls nicht zu höheren Resorptionsraten, im Gegenteil zu unseren Untersuchungen (Bus et al. 1979).

Einschneidende Befunde erhoben Popova et al. (1979), die tragende Tiere mit 9 ppm Halothan begasten. Hier wurde die Exposition während der gesamten Tragezeit durchgeführt und eine erhöhte Resorptionsrate sowie geringere Geburtsgewichte der Jungen erzielt.

Im Vergleich mit unserem Versuch kann also davon ausgegangen werden, daß der schädigende Einfluß bereits vor dem 6. Schwangerschaftstag zum Tragen kommt und somit eine deutliche Embryotoxizität besteht. Bei Exposition in der späteren Schwangerschaft kommt es zum vermehrten Auftreten von Mißbildungen, die in der vorliegenden Arbeit nicht beobachtet werden konnten.

Betrachtet man die Resorptionsrate in Abhängigkeit zur Lösungsmittelkonzentration, so fällt auf, daß offensichtlich ein gewisser Schwellenwert erreicht werden muß, bevor das Agens embryotoxisch wirkt. In den vorliegenden Versuchen wurden jeweils Konzentrationen verabreicht, die für das Muttertier nicht letal waren. Bei Exposition von 800 ppm tragen noch 75 % der mit n-Hexan und 62,5 % der mit MEK behandelten Tiere die Schwangerschaft aus. Bei Konzentrationen von 1 500 ppm sind es nur noch jeweils 50 %. Die Wurfgrößenverteilung ist annähernd gleichmäßig, auch im Vergleich zu den Kontrolltieren, so daß dieses Phänomen dem "Alles-oder-Nichts"-Gesetz unterliegen dürfte.

Als weiterer Nachweis für die Embryo- bzw. Fetotoxizität gilt die prä- und postnatale Gewichtsentwicklung der Neugeborenen sowie ihre neurologische Entwicklung, die zum Zeitpunkt der Geburt noch nicht vollständig abgeschlossen ist.

Bei allen vergleichenden Untersuchungen über die Gewichtsentwicklung der Jungen wurden jeweils Gruppen mit gleicher Geschwisterzahl untersucht.

Die n-Hexan-begasten Muttertiere gebären Junge, deren Gewichte sich nicht auffallend von denen der Kontrolltiere unterscheiden. Die Tiere sind

im Verlaufe jedoch nicht in der Lage, einen Wachstumsspurt zu vollziehen, und bleiben in der Gewichtsentwicklung deutlich zurück (Marks et al. 1980). Es ist bekannt, daß die toxische Wirkung des n-Hexans auf seinen toxischen Stoffwechselzwischenprodukten, speziell 2,5-Hexandion und Methyl-Butyl-Keton, beruht. Bus (1979) untersuchte die Hexandionspiegel im mütterlichen und fetalen Blut und stellte Werte in gleicher Größenordnung fest. Somit ist die Plazentagängigkeit bewiesen. Auffallend ist jedoch die erheblich längere Halbwertzeit des 2,5-Hexandions im mütterlichen Blut, weswegen der toxische Einfluß auf den Fötus geringer sein dürfte. Die mangelhafte Gewichtsentwicklung der Jungen ist bis zum 25. Lebenstag nicht aufzuholen, was die Befunde von Bus (1979) ebenfalls bestätigt.

Durch MEK lassen sich diese Effekte nicht erzielen. Behandelt man mit dem Gemisch, kommt wiederum die Addition n-Hexan und MEK zum Tragen, eine Potenzierung durch das MEK ist auch hier nicht signifikant.

Zur Beurteilung der Retardierungseffekte wird auch die Gehirnentwicklung hinzugezogen. Makroskopisch zeigen sich zunächst Unterschiede. Die Gehirne der Neugeborenen, immer in Relation zum Körpergewicht gesetzt, sind bei den schadstoffexponierten Tieren verhältnismäßig gleich groß, im Verlaufe entwickelt sich jedoch eine ausgeprägte "Kopflastigkeit". Berücksichtigt man nun die oben genannte Körpergewichtsentwicklung, muß davon ausgegangen werden, daß bei niederem Körpergewicht eine annähernd normale Gehirnentwicklung vorliegt. Besonders eindrucksvoll stellt sich dieser Befund am Tag 22 im Experiment I (Abb. 15 und 28) und am Tag 16 für das Experiment III (Abb. 16 und 29) dar. Körpergewichte und Quotient Hirngewicht/Körpergewicht verhalten sich umgekehrt proportional.

Bei histologischer Betrachtung fällt dennoch ein Retardierungseffekt auf. Es kommt bei pränataler Exposition mit hohen Schadstoffkonzentrationen (Experiment III) zur verzögerten Ausbildung und Aufreihung der Purkinjezellen mit ihren Dendritenbäumen und zur verlangsamten Migration. Dieser Effekt wird umso deutlicher, wenn die Tiere nach der Geburt weiterbe-

gast werden. Bei diesen Gruppen zeigen sich auch makroskopisch deutlich Entwicklungsverzögerungen. Die Jungtiere nehmen nur unzureichend an Körpergewicht zu, wobei auch hier eine Dosisabhängigkeit der Schadstoffkonzentration besteht.

Im Rahmen der histologischen und histochemischen Aufarbeitung zeigen sich deutliche Retardierungseffekte. Betrachtet man hier jedoch die schlechte körperliche Entwicklung, muß auch Mangelernährung als Ursache für diese Effekte in Betracht gezogen werden (Gopinath et al. 1976). Das Persistieren der äußeren Körnerschicht sowie der Nachweis der nur schmal ausgebildeten Molekularschicht sind auch bei Malnutrition beobachtet worden (Barnes/Altman 1973, Chase et al. 1969, Dobbing et al. 1971, Lewis et al. 1975, Neville/Chase 1971, Patel et al. 1973, Stewart et al. 1974). Die verzögerte Histogenese des Kleinhirns darf also nicht allein aif die direkt toxischen Einflüsse des Lösungsmittels zurückgeführt werden. Offensichtlich treten die neurologischen Veränderungen dann auf, wenn die Energiezufuhr, die für den axonalen Transport, also für die neurologische Entwicklung, nötig ist, gedrosselt wird.

Das könnte im Falle einer n-Hexan-Exposition über die Hemmung der Glycolyse durch den Metaboliten 2,5-Hexandion erfolgen (Sabri et al. 1979, Spencer et al. 1979) oder über die Bildung eines Enzyminhibitorkomplexes, der für die irreversible Bindung der Aminogruppen an den Neurofilamenten verantwortlich ist. Auf diese Weise würde eine progressive intra- und intermolekulare Kreuzbindung (Crosslinking) erreicht (Graham et al. 1982, 1983). Dadurch nimmt die Lösbarkeit der Neurofilamente ab, was zur Verhinderung des axonalen Transportes führt.

Andererseits sollte berücksichtigt werden, daß Malnutrition den Enzym-Substratumsatz möglicherweise herabsetzt und somit der Organismus weniger anfällig ist. Für den Fall der n-Hexanexposition bedeutet dies ein geringeres Anfluten des toxischen Stoffwechselproduktes 2,5-Hexandion und somit eine geringere Schädigung.

Bei den Jungtieren wurden weniger Schäden des PNS gesehen, was aber auch auf die Unreife der Leber, also eine geringere Aktivität der mikrosomalen Enzyme zurückführbar wäre. Das Neugeborene und sehr junge Tier ist also in gewisser Weise zunächst gegen die toxischen Metaboliten geschützt.

Allgemein konnte jedoch festgestellt werden, daß zwischen Exposition mit organischen Lösungsmitteln und den daraus resultierenden Schädigungen des Organismus eine Dosis-Wirkung-Beziehung besteht.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß organischer Lösungsmittel auf die Schwangerschaft der Ratte und auf ihre Nachkommen untersucht.

Es ist bekannt, daß aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe eine hohe Embryo- und Fetotoxizität besitzen. Es sollte nun gezeigt werden, inwieweit n-Hexan neben seiner Neurotoxizität auch diese Eigenschaften besitzt und ob MEK auch hier als wirksamer Potentiator dieser Effekte fungiert.

Zunächst zeigte sich bereits bei den Muttertieren, die hohen Schadstoffkonzentrationen ausgesetzt waren, eine mangelhafte Gewichtszunahme während der Schwangerschaft. Hierbei wurden nur sicher schwangere Tiere ausgewertet, eine geringere Wurfgröße bei ausgetragener Schwangerschaft konnte nicht beobachtet werden. Als eindeutigen Beweis für die Embryotoxizität konnte jedoch die signifikant erhöhte Rückresorptionsrate der Schwangerschaft bei 50 % der als sicher schwangeren Muttertiere gewertet werden (Experiment III, 1 500 ppm). Die Jungtiere wurden annähernd gleichgewichtig geboren, mit Ausnahme der mit ganz niedriger Konzentration begasten Tiere. Die Körpergewichtsentwicklung verlief unauffällig. Wurden die Jungen nach der Geburt weiter exponiert, verzögerte sich die Körperentwicklung rapide. Die Gewichte der 25 Tage alten begasten Tiere entsprachen denen von ca. 10 Tage alten Kontrolltieren.

Auch die Gehirnentwicklung der exponierten Tiere war eindeutig verzögert, sie wurden mikrozephal geboren. Bei postnataler Weiterbegasung wurden die Tiere zunehmend kopflastig, da sie an Körpergewicht nicht ausreichend zunahmen. Bei den nur pränatal behandelten Tieren erfolgte die Angleichung an die Kontrollgruppen.

Die retardierte Gehirnentwicklung wurde histologisch weiterverfolgt. Da

sich das Kleinhirn postnatal noch weiterentwickelt, konnten hier die Retardierungseffekte besonders gut nachvollzogen werden. Diese zeigten sich besonders bei den hohen Lösungsmittelkonzentrationen ausgesetzten Jungtieren. Am 9. Lebenstag fanden sich bei prä- und postnataler Exposition eine wesentlich schmalere Molekularschicht sowie ungeordnet beieinander liegende Purkinjezellen ohne Dendriten und deren Verästelungen, was dem histologischen Bild des Kleinhirns einer fünf Tage alten unbehandelten Ratte entsprach. Diese Befunde ließen sich auch enzymhistologisch und mittels Golgiimprägnation nachweisen.

Elektronenmikroskopisch zeigte sich bereits bei niedrigen Expositionskonzentrationen deutlich unterentwickeltes Zytoplasma mit wenig Organellen und Ribosomen als Hinweis für die verzögerte Entwicklung.

In dieser Arbeit konnte bestätigt werden, daß n-Hexan neben seiner Neurotoxizität ein erhebliches Maß an Embryo- und Fetotoxizität besitzt, ebenso wie Methyl-Ethyl-Keton. Potenzierungseffekte konnten nicht nachgewiesen werden, ausschlaggebend scheint hier die Gesamtkonzentration zu sein.

7. LITERATURVERZEICHNIS

Addison, W.H.F. (1911): The development of the Purkinje cells and of the cortical layers in the cerebellum of the albino rat. J. Comp. Neurol. 21, 459-487

Allen, N./J.R. Mendell/D.J. Billmaier/R.E. Fontaine/J. O'Neill (1975): Toxic polyneuropathy due to methyl-n-butyl-ketone. Arch. Neurol. 32, 209-218

Altenkirch, H.: Schnüffelsucht und Schnüfflerpolyneuropathie. Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York 1982

Altenkirch, H./G. Stoltenburg/J. Helmbrecht (1977a): Toxic polyneuropathies after sniffing a glue thinner. J. Neurol. 214, 137-152

Altenkirch, H./G. Stoltenburg/H.M. Wagner/J. Mager (1977b): Glue sniffers' neuropathy. 18 cases of MEK-induced n-hexane neuropathies. Excerpta Medica of the 11th World Congress of Neurol. Amsterdam, 427, 299

Altenkirch, H./H.M. Wagner/G. Stoltenburg (1977c): Neurotoxicity of methyl-ethyl-ketone (MEK) and n-hexane in humans and rats. Proc. of the 6th International Meeting of the International Society for Neurochemistry, Copenhagen 6, 232

Altenkirch, H./G. Stoltenburg/H.M. Wagner (1978): Experimental studies on hydrocarbon neuropathies induced by methyl-ethyl-ketone (MEK). J. Neurol. 219, 159-170

Altenkirch, H./H.M. Wagner/G. Stoltenburg/R. Steppat (1982): Potentiation of hexacarbon-neurotoxicity by methyl-ethyl-ketone (MEK) and other substances. Neurobehav. Toxicol. Teratol. 4, 623-627

Altman, J. (1972a): Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. I. The external germinal layer and the transitional molecular layer. J. Comp. Neurol. 145, 353-398

Altman, J. (1972b): Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. II. Phases in the maturation of Purkinje cells and the molecular layer. J. Comp. Neurol. 145, 399-464

Altman, J. (1972c): Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. III. Maturation of the components of the granular layer. J. Comp. Neurol. 145, 465-514

Baker, T.S./D.E. Rickert (1981): Dose-dependent uptake, distribution, and elimination of inhaled n-hexane in the Fischer-344-rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 61, 414-422

Barlow, S.M./F.M. Sullivan: Reproductive hazards of industrial chemicals. An evaluation of animal and human data. Academic Press London/New York/Paris/San Diego/San Francisco/Sao Paulo/Sydney/Tokyo/Toronto 1982

Barnes, D.E./J. Altman (1973): Effects of two levels of gestational-lactational undernutrition on the postweaning growth of the rat cerebellum. Exp. Neurol. 38, 420-428

Billmaier, D./H.T. Yee/N. Allen/B. Craft/N. Williams/S. Epstein/R. Fontaine (1974): Peripheral neuropathy in a coated fabrics plant. J. Occup. Med. 16, 655-671

Borteyru, C.P.: La toxicomanie alcoolique parenterale et ses répercussions sur la descendance, Thèse de médecine (Dissertation). Nantes 1967

Bus, J.S./E.L. White/R.W. Tyl/C.S. Barrow (1979): Perinatal toxicity and metabolism of n-hexane in Fischer-344-rats after inhalation exposure during gestation. Toxicol. Appl. Pharmacol. 51, 295-302

Bus, J.S./E.L. White/P.J. Gillies/C.S. Barrow (1981): Tissue distribution of n-hexane, methyl-n-butyl-ketone, and 2,5-hexanedione in rats after single or repeated inhalation exposure to n-hexane. Drug Metab. Dispos. Vol. 9, ISS 4, 386-387

Chase, H.P./W.F.B. Lindsley jr./D. O'Brien (1969): Undernutrition and cerebellar development. Nature 221, 554-555

Davenport, J./D.F. Farrel/S.M. Sumi (1976): Giant axonal neuropathy caused by industrial chemicals. Neuroaxonal masses in man. Neurology 26, 919-923

Deacon, M.M./M.D. Pilny/J.A. John/B.A. Schwetz/F.J. Murray/H.O. Yakel/R.A. Kuna (1981): Embryo- and fetotoxicity of inhaled methyl ethyl ketone in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 59, 620-622

De Caprio, A.P./E.J. Olajos/P. Weber (1982): Covalent binding of a neurotoxic n-hexane metabolite: Conversion of primary amines to substituted pyrrole adducts by 2,5-hexanedione. Toxicol. Appl. Pharmacol. 65, 440-450

De Caprio, A.P./N.L. Strominger/P. Weber (1983): Neurotoxicity and protein binding of 2,5-hexanedione in the hen. Toxicol. Appl. Pharmacol. 68, 297-307

Dobbing, J./J.W. Hopewell/A. Lynch (1971): Vulnerability of developing brain. VII. Permanent deficit of neurons in cerebral and cerebellar cortex following early mild undernutrition. Exp. Neurol. 32, 439-447

Erickson, J.D./W.M. Cochran/C.E. Anderson (1978): Birth defects and printing. Lancet I, 385

Friede, R. (1957): Die histochemische Reifung des Kleinhirns der Ratte, dargestellt durch das Verhalten der Succinodehydrogenase. Arch. Psychiat. Nervenkr. 196, 196-204

Funes-Cravioto, F./C. Zapata-Gayon/B. Kolmodin-Hedman/B. Lambert/J. Lindstein/E. Norberg/M. Nordenskjöld/R. Olin/A. Swensson (1977): Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange in workers in chemical laboratories and a rotoprinting factory and in children of women laboratory workers. Lancet II, 322-325

Golfmekler, V.A. (1968): Effect in embryonic development of benzene and formaldehyde. Hyg. Snit. 33, 327-332

Gopinath, G./V. Bijlani/M.G. Deo (1976): Undernutrition and the developing cerebellar cortex in the rat. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 35, 125-135

Goto, I./M. Matsumura (1974): Toxic polyneuropathy due to glue sniffing. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 37, 848-853

Graham, D.G./M.B. Abou-Donia (1980): Studies of the molecular pathogenesis of hexane neuropathy. I. Evaluation of the inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by 2,5-hexanedione. J. Toxicol. Environ. Health 6, 621-631

Graham, D.G./D.C. Anthony/K. Boekelheide/N.A. Maschmann/G.A. Richards/J.W. Wolfram/B.R. Shaw (1982): Studies of the molecular pathogenesis of hexane neuropathy. II. Evidence that pyrole derivatization of lysyl residues leads to protein crosslinking. Toxicol. Appl. Pharmacol. 64, 415-422

Graham, D.G./B.R. Shaw/R. Richards/M.B. Abou-Donia (1983): Studies on the molecular pathogenesis of hexane neuropathy. II. Reaction between 2,5-hexanedione and lysyl residues of proteins as the molecular lesion in hexane neuropathy. In press

Green, J.D./B.K.J. Leong/S. Laskin (1978): Inhaled benzene fetotoxicity in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 46, 9-18

Hazleton-Studie 1977, siehe Murray, F.J. et al. 1979

Henschler, D. (Hrsg.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten (maximale Arbeitsplatzkonzentrationen). Verlag Chemie, Weinheim 1979

Hershkowitz, A./N. Ishii/H. Schaumburg (1971): n-Hexane neuropathy. A syndrome occurring as a result of industrial exposure. N. Engl. J. Med. 285, 82-85

Hiort, U.: Untersuchungen über den Mechanismus der Wirkungen von organischen Lösungsmitteln und deren Kombination (n-Hexan, MEK) auf die Aktivität der mischfunktionellen Oxidase in der Mikrosomenfraktion der Rattenleber. Diplomarbeit im Fachbereich Biologie der Freien Universität Berlin, Berlin 1980

Holmberg, P.C. (1979): Central-nervous-system defects in children born to mothers exposed to organic solvents during pregnancy. Lancet II, 177-179

Hudák, A./G. Ungváry (1978): Embryotoxic effects of benzene and its methyl derivatives: toluene, xylene. Toxicology 11, 55-63

Jackson, C.M. (1913): Postnatal growth and variability of the body and various organs of the albino rat. Am. J. Anat. 15

Jones, K.L./D.W. Smith (1973): Cognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. Lancet II, 999-1001

Korobkin, R./A.K. Asbury/A.J. Sumner/S.L. Nielsen (1975): Glue sniffing neuropathy. Arch. Neurol. 32, 158-162

Krasavage, W.J./J.L. O'Donoghue/G.D. Di Vincenzo/C.J. Terhaar (1980): The relative neurotoxicity of methyl-n-butyl-ketone, n-hexane and their metabolites. Toxicol. Appl. Pharmacol. 52, 433-441

Kuna, R.A./R.W. Kapp jr. (1981): The embryotoxic/teratogenic potential of benzene vapor in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 57, 1-7

Lamache, A.M. (1967): Réflexions sur la descendance des alcooliques. Bull. Acad. Natl. Med. 151, 517

Lewis, P.D./R. Balázs/A.J. Patel/A.L. Johnson (1975): The effect of undernutrition in early life on cell generation in the rat brain. Brain Res. 83, 235-247

Litton Bionetics Inc. USA, siehe Murray, F.J. et al. 1979

Mallov, J.S. (1976): MBK-neuropathy among spray painters. JAMA 324, 1455-1457

Marks, T.A./P.W. Fisher/R.E. Staples (1980): Influence of n-hexane on embryo and fetal development in mice. Drug. Chem. Toxicol. 3, 393-406

Mendell, J.R./Z. Sahenk/K. Saida/H.S. Weiss/R. Savage/D. Couri (1977): Alterations of fast axoplasmic transport in experimental methyl-n-butyl-ketone neuropathy. Brain Res. 133, 107-118

Murray, F.J./J.A. John/L.W. Rampy/R.A. Kuna/B.A. Schwetz (1979): Embryotoxicity of inhaled benzene in mice and rabbits. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 40, 993-998

Nachlass, M.M./K.C. Tsou/C.S. Souza/A.M. Seligman (1957): Cytochemical Demonstrations of succinic Dehydrogenase by the use of a New p-Nitrophenyl Substituted Ditetrazole. J. Histochem. Cytochem. 5, 420

Neville, H.E./H.P. Chase (1971): Undernutrition and cerebellar development. Exp. Neurol. 33, 485-497

NIOSH = National Institute for Occupational Safety and Health. DHEW Publication No. 77-151. Criteria for a recommended standard... Occupational exposure to alkanes (C5-C8). U.S. Government Printing Office Washington 1977

Novikoff, A.B. (1960): Biochemical and staining reactions of cytoplasmic constituents; aus: Developing Cell Systems and Their Controll (Ronald Press New York), 167

O'Donoghue, J.L./W.J. Krasavage/G.D. DiVincenzo/D.A. Ziegler (1982): Commercial-grade methyl heptyl ketone (5-methyl-2-octanone) neurotoxicity: contribution of 4-nonanone. Toxicol. Appl. Pharmacol. 62, 307

Oh, S.J./J.M. Kim (1976): Gigant axonal swelling in "snuffer" neuropathie. Arch. Neurol. 33, 583

Patel, A.J./R. Balázs/A.L. Johnson (1973): Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. J. Neurochem. 20, 1151-1165

Paulson, G.W./G.W. Waylonis (1976): Polyneuropathy due to n-hexane. Arch. Intern. Med. 136, 880-882

Peters, A./I.R. Kaiserman-Abramof (1970): The small pyramidal neuron of the rat cerebral cortex. The perikaryon, dendrites and spines. Am. J. Anat. 127, 321-356

Popova, S./T. Virgieva/J. Atanasova/A. Atanasov/B. Sahatchiev (1979: Embryotoxicity and fertility study with halothane subanesthetic concentration in rats. Acta Anaesthesiol Scand. 23, 505-512

Pushkina, N.W./V.A. Gofmekler/G.R. Kiirtsoma (1968): Changes in content of ascorbic acid and nucleic acids produced by benzene and formaldehyde. Bull. Exp. Biol. Med. 66, 868-870

Sabri, M.I./C.L. Moore/P.S. Spencer (1979): Studies on the biochemical basis of distal axonopathies. J. Neurochem. 32, 683-689

Salewski, E. (1964): Färbemethoden zum makroskopischen Nachweis von Implantationsstellen am Uterus der Ratte. Referate der 5. Frühjahrstagung der Troponwerke Köln, 367

Schwetz, B.A./B.K.J. Leong/P.J. Gehring (1974): Embryo- and fetotocicity of inhaled chloroform in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 28, 442-451

Shirabe, T./T. Tsuda/A. Terao/S. Araki (1974): Toxic polyneuropathy due to glue sniffing. Report of two cases with a light and electron microscopic study of the peripheral nerves and muscles. J. Neurol. Sci. 21, 101-113

Spencer, P.S./H.H. Schaumburg/R.L. Raleigh/C.J. Terhaar (1975): Nervous system degeneration produced by the industrial solvent methyl-n-butyl-ketone. Arch. Neurol. 32, 219-222

Spencer, P.S./M.I. Sabri/H.H. Schaumburg/C.L. Moore (1979): Does a defect of energy metabolism in the nerve fibre underly axonal degeneration in polyneuropathies? Ann. Neurol. 5, 501-507

Statistisches Bundesamt, Veröffentlichungen des. Fachserie 1, Reihe 4.1.2: Berufs-, Ausbildungs- und Arbeitsbedingungen der Erwerbstätigen. Wiesbaden 1980

Stewart, R.J.C./A. Merat/J.W.T. Dickerson (1974): Effect of a low protein diet in mother rats on the structure of the brains of the offspring. Biol. Neonate. 25, 125-134

Stockdreher, A. (1980): Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung von reinen organischen Lösungsmitteln (n-Hexan, MEK) und deren Kombination. Diplomarbeit im Fachbereich Biologie der Freien Universität Berlin

Strandberg, M./K. Sandbäck/O. Axelson/L. Sundell (1978): Spontaneous abortions among women in hospital laboratory. Lancet I, 384-385

Toutant, C./S. Lippmann (1979): Fetal sovents syndrome. Lancet I, 1356

Towfighi, M.D./N.K. Gonatas/D. Pleasure/H.S. Cooper/L. Mc Creen (1976): Glue sniffer neuropathie. Neurol. 26, 238

Ungváry, G./E. Tátrai/A. Hudák/G. Barcza/M. Lorincz (1980): Studies on the embryotoxic effects of ortho-, meta- and para-xylol. Toxicology 18, 61-74

United States International Trade Commission: Crude products from petroleum and natural gas - for chemical conversion, 1974

Vozovaya, M.A. (1975): Action of low concentrations of benzene, dichloroethane and their combination on the generative function of animals and the development of progeny. Gi. Tr. Prox. Label 7, 20-23

Vozovaya, M.A. (1976): The effect of small concentrations of benzene and dichloroethane separately and combined on the reproductive function of animals. B. Sanit. 6, 100-102

Yamamura, Y. (1969): n-hexane polyneuropathy. Folia. Psychiatr. Neurol. Jpn. 23, 45-57

LEBENSLAUF

30.04.1951	geboren als Tochter des Gesamtschuldirektors Norbert Stockdreher und seiner Frau Kordula Stockdreher geb. Deider
ab April 1958	Besuch der 9. Grundschule Berlin-Lankwitz
ab April 1962	Besuch der Kronach-Schule Berlin-Lichterfelde
ab April 1964	Besuch der Lilienthal-Schule, Gymnasium, Berlin-Lichterfelde
17.01.1972	Abitur
ab April 1972	Studium an der Freien Universität Berlin (Mathematik, Biologie)
31.10.1974	Vordiplom in Biologie
04.11.1980	Diplom in Biologie
ab Oktober 1976	Medizinstudium an der Freien Universität Berlin
17.05.1982	Approbation als Arzt
seit August 1982	Tätigkeit als Assistenzarzt im Krankenhaus Maria Trost Berlin-Lankwitz
seit März 1985	verheiratet mit Rolf Rabe

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☎ 3416451
Dissertationen